BAND 40, HEFT 4 FEBRUAR 1961

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. N. Hiratsuka, Tokyo / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen / Prof. Dr. T. S. Sadasivan, Madras / Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest Prof. Dr. K. Silberschmidt, São Paulo / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 30 Abbildungen

1961

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 40 **Heft 4** *S. 317—424 Berlin 1961*

Postverlagsort Berlin

10 MAR 1961

INHALT

Abhandlungen

Hohl, H. R., Über die submikroskopische Struktur hyperplastischer Gewebe von *Datura stramonium* L. Mit 18 Abb. 317

Bercks, R., Serologische Verwandtschaft zwischen Kartoffel-Y-Virus, Rübenmosaik-Virus und *Phaseolus*-Virus 2 357

Kobel, F., Über das Vorkommen der Gelbverzwergung des Getreides (*Hordeumvirus nanescens*) in der Schweiz. Mit 5 Abb. 366

Glaser, T., und A. Schmidle, Über Hypertrophien an Pfirsichzweigen. Mit 5 Abb. .. 373

Herzog, W., Das Überdauern und der Saprophytismus des Wurzeltöters *Rhizoctonia solani* K. im Boden 379

Uschdraweit, H. A., Eine für Deutschland neue Virose bei *Vaccinium myrtillus*. Mit 2 Abb. 416

Kurze Mitteilungen

Bochow, H., Über die Beeinflussung von *Plasmodiophora brassicae* Wor. durch Mineralsalze 420

Besprechungen 422

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19. Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 30 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Vorbehalt aller Rechte, insbesondere auch der photomechanischen Vervielfältigung: Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe sind vorbehalten. Gewerblichen Unternehmen wird die Anfertigung einer photomechanischen Vervielfältigung von Beiträgen oder Beitragsteilen für den innerbetrieblichen Gebrauch durch Photokopie, Mikrokopie und dergleichen, nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens vom 14. 6. 1958, gegen Bezahlung der dort vorgesehenen Gebühr bis zu 3 Exemplaren gestattet. Die Vervielfältigungen haben einen Vermerk über die Quelle und den Vervielfältiger zu tragen. Die in dem Rahmenabkommen vorgesehene Gebühr ist an die Inkassostelle für Photokopiergebühren beim Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V., Frankfurt/M., Gr. Hirschgraben 17-19, zu entrichten. Erfolgt die Entrichtung der Gebühren durch Wertmarken der Inkassostelle, so ist für jedes Photokopierblatt eine Marke im Werte von DM 0,30 zu verwenden. Mit der Überlassung des Manuskriptes überträgt der Verfasser dem Verlag das Recht zu dieser Genehmigung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jedes Heft enthält etwa 7 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,75 DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Verlag: Paul Parey, Berlin SW 61, Lindenstraße 44/47, Telefon 61 44 68/69. Printed in Germany (Westberlin).

Abonnementspreis dieses Heftes 27,80 DM **Einzelpreis 30,50 DM**

Aus dem Institut für spezielle Botanik
Prof. Dr. E. Gäumann
und dem Laboratorium für Elektronenmikroskopie
Prof. Dr. K. Mühlethaler
der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Über die submikroskopische Struktur hyperplastischer Gewebe von *Datura stramonium* L.

Von
H. R. Hohl

Mit 18 Abbildungen

Inhalt: A. Einleitung. — B. Material und Methoden. — C. Elektronenmikroskopische Untersuchungen. I. *Agrobacterium tumefaciens;* II. Primärtumor; III. Sekundärtumor; IV. Wundgewebe; V. Gewebekultur; VI. Einschlußkörperplastiden. — D. Besprechung der Ergebnisse. I. Morphologische Probleme; II. Pathologische Probleme. — Zusammenfassung. — Summary. — Résumé. — Literaturverzeichnis.

A. EINLEITUNG

Das Wesen pflanzlicher Tumoren besteht in ihrer Fähigkeit, sich unabhängig im Innern des Organismus zu vermehren (Braun and Stonier 1958). Durch diese Autonomie unterscheiden sie sich von allen übrigen Hyperplasien. Physiologisch zeichnet sich die Tumorzelle durch permanent und stufenweise aktivierte Wuchsstoffsysteme aus. Morphologisch dagegen besitzt sie keine spezifischen Merkmale (Bloch 1952).

Zur Transformation einer normalen in eine Crown-Gall-Zelle müssen unter anderen zwei Voraussetzungen erfüllt sein; einmal ist die Anwesenheit eines virulenten Stammes von *Agrobacterium tumefaciens* und zum anderen eine Wunde nötig.

Das Bakterium stört durch seine Anwesenheit in den wundnahen Interzellularräumen die normale Wundheilung, indem sich die Zellen nicht nur parallel zur Wundfläche, sondern auch um die bakterienerfüllten Interzellularräume herum zu teilen beginnen (Riker 1923, Noël 1946) und dadurch die Ausbildung eines geordneten Abschlußgewebes verhindern. Zudem bilden die Bakterien das sogenannte tumorinduzierende Prinzip, wel-

ches mit der Umstimmung der konditionierten Zellen (vgl. Klein and Link 1955) zu Tumorzellen verknüpft ist. Nach den bisher geäußerten Meinungen könnte das tumorinduzierende Prinzip sein (Braun 1947):

1. Ein Stoffwechselprodukt des Bakteriums.
2. Ein normaler Bestandteil des Wirtes, der durch das Bakterium in ein carcinogenes Prinzip verwandelt wird.
3. Eine chemische Fraktion des Bakteriums, die befähigt ist, eine spezifische Änderung zu induzieren, welche zu einer kontinuierlichen und abnormen Entwicklung dieser Zellen führt.
4. Ein Virus, das mit dem Bakterium assoziiert ist und von diesem übertragen wird.
5. Das Bakterium selbst, das in die verwundete Zelle eindringt und dabei morphologisch und physiologisch derart verändert wird, daß es weder mit Isolierungs- noch mit Färbemethoden nachgewiesen werden kann.

Trotz umfangreicher Untersuchungen (Smith 1917 a, Klein 1953, Klein and Knupp 1957, Bender und Brucker 1959, Manigault et Stoll 1960) ist seine Natur noch unbekannt (vgl. Klein and Braun 1960).

Mit der Verwundung, welche in enger Beziehung zur sogenannten Konditionierung der Wirtszellen steht, haben sich nur relativ wenige Autoren befaßt. Zwar hat bereits im Jahre 1918 Magnus die Bedeutung der Wunde für die Tumorgenese erkannt, doch schrieb man ihr lange Zeit lediglich eine unspezifische Rolle als Eintrittspforte für den Erreger oder zur Bloßlegung von Protoplasten zu (Smith et al. 1911). Aber allein der Umstand, daß sie auch bei der Entstehung von Virus-Tumoren (Black 1958) und genetischen Tumoren (Braun 1954 a, Kehr and Smith 1954) maßgeblich beteiligt ist, deutet auf die Unzulänglichkeit solcher Erklärungen hin. Die Arbeiten von Braun (z. B. 1952) und Rack (1954) haben denn auch die spezifische Wirkungsweise der Wunde erkennen lassen.

Nach Rack (1954) werden durch die Verwundung die korrelativen Bindungen in den angrenzenden Geweben gelockert, worauf sich die Zellen zu teilen beginnen und dedifferenzieren. Während dieser Zeit sind sie für das tumorinduzierende Prinzip empfänglich. Dieses wirkt auf sie ein, indem es ihre Rückkehr zu normalen Verhältnissen dauernd verhindert und sie damit zu Tumorzellen macht. Wirkt das tumorinduzierende Prinzip erst bei fortgeschrittener Wundheilung auf die Zellen ein, vermag es sie nicht mehr zu transformieren, da sie bereits wieder korrelativ gebunden sind.

Nach Braun (1954 a, 1959) entstehen bei der Verwundung zytoplasmatische Partikeln noch unbekannter Natur, die sich unter der Wirkung des tumorinduzierenden Prinzips in autonome Einheiten umwandeln und dadurch zu Trägern der wichtigsten Krebseigenschaft — der Autonomie — werden.

Mit Hilfe des Lichtmikroskopes läßt sich die Frage der Transformation nicht befriedigend klären; die damit erfaßbaren Zellveränderungen setzen meist erst ein, wenn die Umwandlung in Tumorzellen bereits voll-

zogen ist. Wir haben uns deshalb entschlossen, das Elektronenmikroskop zur Klärung dieser Fragen heranzuziehen, was unseres Wissens bisher nicht versucht wurde. Die Resultate der elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Normalgeweben, als Voraussetzung für die Beurteilung der pathologischen Verhältnisse, wurden bereits beschrieben (Hohl 1960). In dieser Arbeit folgt die Besprechung der Tumor- und Wundgewebe. Zur Ergänzung wurden Gewebekulturen und Sekundärtumoren in die Untersuchungen mit einbezogen.

Die vorliegende Arbeit wurde an den Instituten für spezielle und allgemeine Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich ausgeführt. Den Direktoren, Herrn Prof. Dr. E. Gäumann und Herrn Prof. Dr. A. Frey-Wyssling bin ich zu großem Dank verpflichtet. Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. A. von Albertini (Histopathologisches Institut der Universität Zürich) für seine wertvollen Anregungen. Herrn Prof. Dr. K. Mühlethaler danke ich für die freundliche Aufnahme in seinem Laboratorium und für das stete Interesse, das er meiner Arbeit zuteil werden ließ. Besonderen Dank schulde ich den Herren Dr. A. Vogel und Dr. Ch. Stoll, die mich jederzeit hilfsbereit unterstützt und beraten haben. Herzlich danken möchte ich meiner Frau, Marianne Hohl-Sennhauser für ihre Mitarbeit. Herrn Obergärtner Humm sei für die Anzucht der Versuchspflanzen und für die Lösung verschiedener technischer Probleme bestens gedankt.

Die Firma Sandoz in Basel hat durch einen großzügigen finanziellen Beitrag die Durchführung dieser Untersuchung ermöglicht, wofür ich auch an dieser Stelle meinen Dank wiederholen möchte.

B. MATERIAL UND METHODEN

I. Versuchspflanzen

Die Untersuchungen wurden vorwiegend an *Datura stramonium* L. durchgeführt, deren Anzucht wir bereits im ersten Teil dieser Arbeit (Hohl 1960) beschrieben haben. Daneben verwendeten wir zu Vergleichszwecken noch die folgenden Objekte: *Bryophyllum daigremontiana* Hort., *Helianthus annuus* L., *Kalanchoë Blossfeldiana* von Poellnitz, *Nicotiana tabacum* L., *Solanum lycopersicum* L., *Vinca rosea* L., *Allium ursinum* L., *Arum italicum* Mill. und *Paris quadrifolia* L. Die letzten drei wurden im Freien gezogen, die übrigen im Gewächshaus.

II. Gewebekulturen

Die untersuchten Gewebekulturen von *Datura stramonium* waren 3 Wochen bis 12 Monate alt. Sie wurden auf der Nährlösung von Heller (1954) gezogen, die je Liter 750 mg KCl, 600 mg $NaNO_3$, 250 mg $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 125 mg $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, 75 mg $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 1 mg $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 1 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 mg H_3BO_3, 0,1 mg $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, 0,03 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0,03 mg $AlCl_3$, 0,03 mg $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ und 0,01 mg KJ enthält; ergänzt wurde dieses Medium durch 20 g Glukose (Sandoz puriss.), 10 g Agar

(Difco-Bacto), 150 ml Kokosnußmilch, 1 mg Aneurin, 1 mg Adenin, 1 mg α-Naphthyl-Essigsäure, 0,1 mg Gibberellinsäure und 0,1 mg p-chlor-phenoxy-Essigsäure.

III. Bakterien

Wir verwendeten *Agrobacterium tumefaciens* (SMITH and TOWNSEND) Conn. Es handelt sich um den von BRAUN isolierten, virulenten Stamm B 6.

Die Bakterien wurden auf folgendem Nährmedium gezogen und in regelmäßigen Abständen überimpft: 3 g Oxoid Lab Lemco, 5 g Pepton Ciba B, 2,5 g NaCl und 17,5 g Agar; Leitungswasser ad 1 Liter, pH 7,2 (mit Kaliumhydroxyd/Milchsäure eingestellt).

Vor jeder Inokulation wurden die Bakterien zweimal im Abstand von je 48 h auf neue Schrägagarröhren übertragen, darauf mit 5ml/Röhrchen 0,9prozentige NaCl-Lösung abgeschwemmt. Die Suspension wurde mit fein ausgezogenen Glaskapillaren durch horizontale Einstiche derart auf die oberste Stengelpartie übertragen, daß an jedem der 5 Einstiche/Stengel ein kleiner Flüssigkeitstropfen haften blieb.

Den Kontrollpflanzen wurde auf gleiche Weise sterile 0,9prozentige NaCl-Lösung injiziert.

IV. Mikroskopische Techniken

Die Methoden für die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen sind bereits beschrieben (HOHL 1960). Fixiert wurde mit 1prozentigem OsO_4, 2prozentigem $KMnO_4$ oder einem Gemisch der beiden; die OsO_4-fixierten Objekte wurden überdies mit Uranyl-acetat kontrastiert. Die Einbettung erfolgte in Araldit, in Ausnahmefällen in Methacrylat. Die Auswahl der Schnitte geschah im Zielverfahren nach VOGEL (1960 a), das eine genaue Lokalisierung und lichtmikroskopische Kontrolle des elektronenmikroskopisch untersuchten Areals erlaubt.

C. ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

I. *Agrobacterium tumefaciens*

Eigene Untersuchungen. Wir haben Bakterien nur in jüngsten, sich entwickelnden Tumoren (bis zum 6. Tage) angetroffen; sie treten — verletzte Zellen und Tracheiden ausgenommen — interzellulär auf (Abb. 1 a). Die etwa 1,5 μ langen und 0,5 μ breiten Bakterien besitzen eine Zell- und eine Plasmamembran von je etwa 100 Å Dicke. Der Entscheid, ob diese Membranen aus Untereinheiten zusammengesetzt sind, steht noch aus. An die Plasmamembran grenzt eine dichte Randzone, die einen locker gebauten, zentralgelegenen Binnenraum umschließt (Abb. 1 b). Die Randzone ist im Mittel 0,1 μ dick und stößt oft protuberanzenartig gegen den Zentralraum vor. Sie ist aus einer körnigen Masse aufgebaut, deren Elemente einen Mittelwert von etwa 95 Å aufweisen. Gelegentlich ordnen sich die Körner zu Ketten aneinander. Lagern

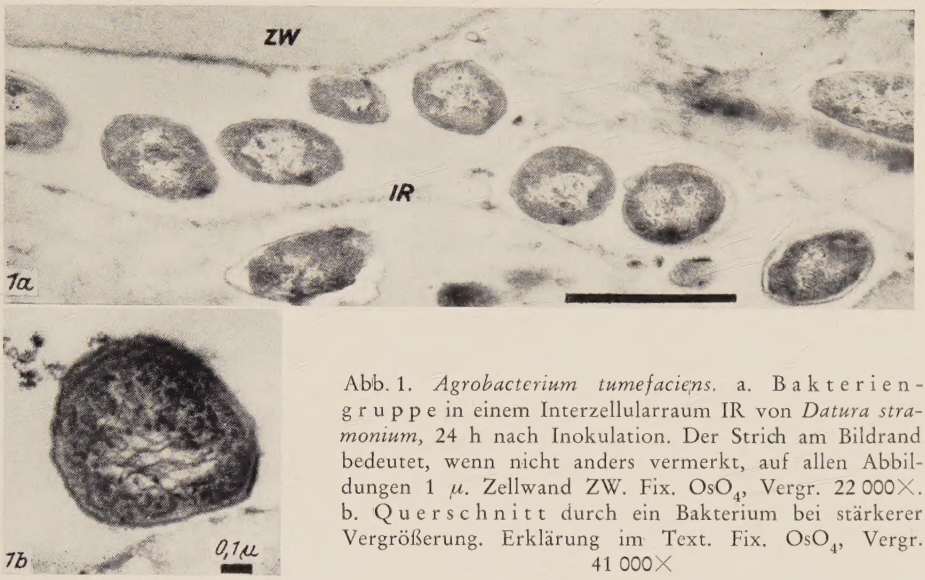

Abb. 1. *Agrobacterium tumefaciens.* a. Bakteriengruppe in einem Interzellularraum IR von *Datura stramonium,* 24 h nach Inokulation. Der Strich am Bildrand bedeutet, wenn nicht anders vermerkt, auf allen Abbildungen 1 μ. Zellwand ZW. Fix. OsO_4, Vergr. 22 000×. b. Querschnitt durch ein Bakterium bei stärkerer Vergrößerung. Erklärung im Text. Fix. OsO_4, Vergr. 41 000×

sich mehrere solcher Gebilde parallel, so entsteht der Eindruck einer Lamellierung. Der zentrale Binnenraum (Abb. 1 b) ist ausgefüllt von zahlreichen, etwa 50 Å dicken Fibrillen, die zum Teil parallel, zum Teil verzweigt oder netzartig angeordnet sind. Stellenweise vergrößert sich ihr Durchmesser auf 80 bis 130 Å.

Diskussion. *Agrobacterium tumefaciens* zeigt im wesentlichen denselben Aufbau, wie ihn z. B. KELLENBERGER et al. (1958) für *Escherichia coli* und TAKUYASU and YAMADA (1959) für *Bacillus subtilis* beschreiben. Es enthält neben der Zell- eine Plasmamembran, gekörntes Plasma und einen fibrillären Nukleoiden.

Nicht bestätigen ließen sich die Angaben von RUBIO-HUERTOS und DESJARDINS (1960), wonach der zentrale, lichte Bereich des *Agrobacterium tumefaciens* einem Vakuolensystem entspricht. Alle Schnitte durch das Bakterium lassen einen fibrillären Binnenraum erkennen, allerdings nur bei gutem Erhaltungszustand der Zellen. Auch die elektronenmikroskopischen Untersuchungen von KNÖSEL (1957) und KNÖSEL und GÜNTHER (1958) an enzymbehandelten und beschatteten Totalpräparaten von *Agrobacterium tumefaciens* haben die Anwesenheit eines relativ großen, zentralgelegenen Kerns erwiesen, der wohl mit dem fibrillären Binnenraum identisch ist.

Ferner ließen sich auch die lichtmikroskopisch mehrfach gemachten Beobachtungen bestätigen, wonach die Bakterien nur interzellulär auftreten (z. B. STONIER 1956) und nur im Innern junger Tumoren zu finden sind (SYLWESTER and COUNTRYMAN 1933).

Virus- oder phagenähnliche Partikeln haben wir nie festgestellt. Dies schließt keineswegs mit Sicherheit die Anwesenheit virusartiger Sub-

stanzen aus (HUXLEY 1958, OBERLING 1959), und erst ausgedehntere Versuche zur Aktivierung möglicherweise vorhandener Proviren können diese Frage beantworten (vgl. Schlußdiskussion).

II. Primärtumor

KUPILA (1958) unterscheidet histologisch zwei Crown-Gall-Typen: 1. den „organisierten" Tumor, der charakterisiert ist durch kleinzellige, meristematische Zentren und ein Tracheidennetz, das den Tumor durchzieht und die lignifizierten Bezirke untereinander verbindet; 2. den „unorganisierten" Tumor, dem die kleinzelligen Zentren fehlen und der kein Gefäßnetzwerk ausbildet. Nur der „organisierte" Tumor ist in der Lage, Teratome zu bilden.

Die Tumoren von *Datura stramonium* besitzen meristematische Teilungszentren und gehören deshalb zum „organisierten" Typ. Sie enthalten Kambien, Parenchyme, meristematische Zentren, lignifizierte Knoten, Tracheiden und Phloemelemente (Abb. 2; weitere Abbildungen zur Histologie bei MANIGAULT et STOLI 1960). Das Kambium ist nicht so straff geordnet wie dasjenige des Normalstengels, auch sind seine Zellen etwas größer. Das Parenchym läßt sich nicht scharf vom Kambium abtrennen und umfaßt auch die zum Teil stark hypertrophierten Zellen. Im Grundparenchym sind kleinzellige, meristematische Teilungszentren von kugeliger Gestalt eingelagert, in denen oft plasmareiche Zellen mit zentralgelegenem Kern — vergleichbar mit primären Meristemzellen — auftreten. Die lignifizierten Knoten sind aus atypischen Tracheiden von mehr oder weniger isodiametrischer Form aufgebaut. Sie sind von kambialen Zellen umgeben und entstehen wahrscheinlich aus den meristematischen Teilungszentren. Weiter treten Tracheiden einzeln, in Gruppen oder zu ganzen „Holzkörpern" geordnet auf. An der Außenseite des Kambiums läßt sich — meist undeutlich — ein atypisches Phloem in Form von mehr oder weniger isodiametrischen Siebröhren erkennen.

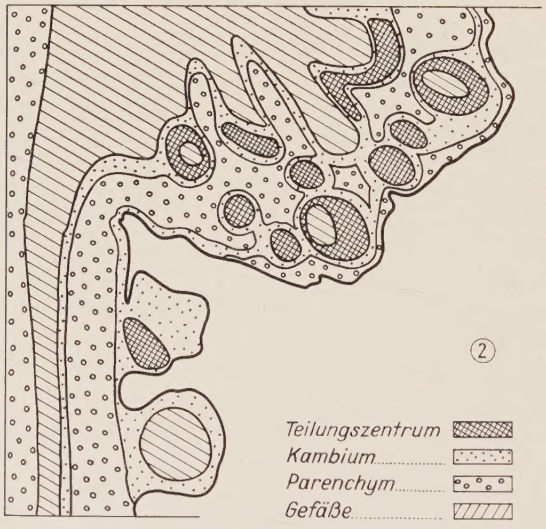

Abb. 2. Tumorhistologie (halbschematisch). Unten: Teil des Normalstengels mit zwei kleinen Sekundärtumoren; oben: Teil eines Primärtumors. Vergr. etwa 8×

Den folgenden Ausführungen möchten wir vorausschicken, daß wir morphologische Einzelheiten (besonders Maßangaben) nur dann erörtern werden, wenn diese von den normalen Verhältnissen abweichen, sie ergänzen oder für die hyperplastischen Gewebe von besonderer Bedeutung sind. Im übrigen verweisen wir — und dies gilt auch für die Literatur über Normalstrukturen — auf den ersten Teil dieser Arbeit (HOHL 1960).

1. Tumorkambium

Die Kambiumzelle besitzt eine große zentrale Vakuole und einen schmalen Plasmasaum, in dem alle Organellen eingelagert sind.

Den Kern begrenzt eine doppelte Membran, die von Poren durchbrochen wird und in kontinuierlicher Verbindung mit dem Endoplasmatischen Retikulum (ER) steht. Im Innern des Kerns unterscheidet man neben dem homogenen Karyoplasma den gekörnten Nukleolus und unregelmäßig begrenzte, dichte Areale, die wahrscheinlich den chromatischen Bezirken entsprechen. Nicht selten zieht vom Nukleolus ein Strang zur Kernperipherie, der aus Nukleolusmaterial zu bestehen scheint.

Die Mitochondrien (Abb. 3, 4, 7, 8) besitzen ebenfalls eine doppelte Membran. Sie enthalten kleine, der inneren Grenzlamelle entspringende Röhrchen, sog. *tubuli mitochondriales.* Ab und zu findet man dunklere, körnige Bezirke oder einzelne *tubuli*, die sich ringförmig zusammenschließen. Die Mitochondrien sind in der Regel oval oder eiförmig, nicht

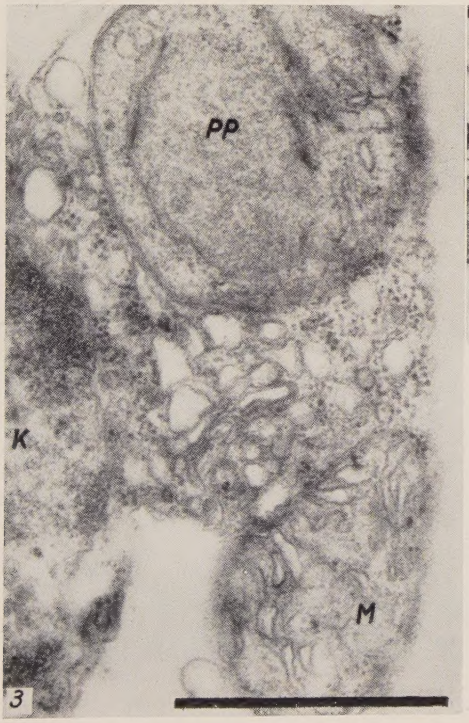

Abb. 3. Teil einer Tumorkambiumzelle. Plasma mit Mikrosomen und Golgi-Bläschen. Kern K, Proplastid PP mit schwach erkennbarem Einschlußkörper und Mitochondrium M. Fix. OsO_4, Vergr. 36 000×

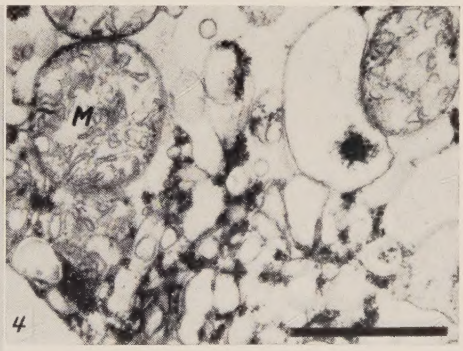

Abb. 4. Polymorphe Plasmapartie. Erklärung im Text. Mitochondrium M. Fix. OsO_4, Vergr. 21 000×

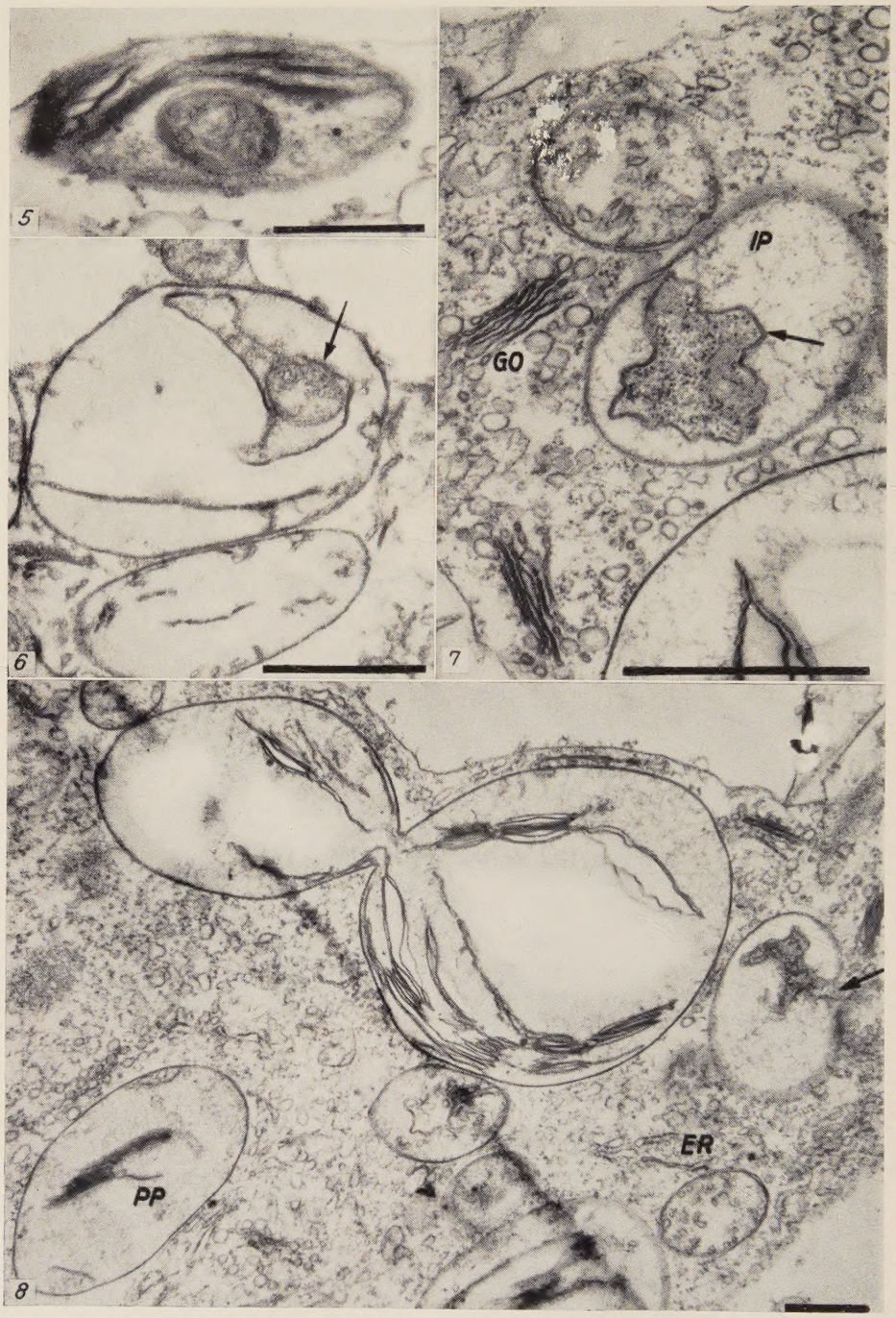

Abb. 5—8. Invaginationsplastiden. Erklärung im Text

selten treten aber auch langgestreckte (mehrere μ lange) und abgewinkelte Formen auf. Sie liegen regellos im Plasma verstreut und lassen keinerlei bevorzugte Lagerung zu anderen Zellkomponenten erkennen. Teilungen scheinen selten zu sein. Mitunter finden sich hantelförmige Mitochondrien, die man als Durchschnürungsstadien deuten kann.

Die Sphaerosomen, runde, homogene Körperchen mit einfacher Membran, treten im Tumorgewebe nicht häufig auf. Ihre Zahl scheint gegenüber derjenigen in Normalgeweben vermindert.

Die Golgi-Komplexe (Abb. 7) bestehen aus 4 bis 6 zu einem Stapel geordneten Doppellamellen, deren Ränder zu kleinen Bläschen erweitert sein können. Sie treten in normaler Zahl auf und sind regellos im Plasma verstreut. Um die Lamellenpakete können freie Bläschen in großer Zahl gelagert sein. Teilungsstadien haben wir keine gefunden.

Im Grundplasma (Abb. 3, 8, 12) unterscheiden wir das Endoplasmatische Retikulum (ER), die Mikrosomen, das Grundplasma *sensu stricto* und die den Protoplasten begrenzenden Tonoplast und Plasmalemma. Das ER besteht aus Doppellamellen, die als lockeres Netz das Plasma durchziehen. Die Mikrosomen (Ribosomen, Meiosomen) sind stark osmiophile Partikeln von etwa 150 Å Durchmesser. Sie liegen frei im Plasma oder sind den ER-Lamellen angelagert (Abb. 3, 8). Das Grundplasma *sensu stricto* besteht aus einer homogenen, mäßig osmiophilen Substanz, die keinerlei weitere Strukturen erkennen läßt. Tonoplast und Plasmalemma sind gleich gebaut wie im Normalgewebe. Sie schließen das Plasma lückenlos gegen die Vakuole und die Zellwand ab.

Neben dieser „normalen" Ausbildung trifft man auch Plasmabezirke, die durch einen gesteigerten Polymorphismus auffallen. Das Plasma erscheint vakuolisiert, aufgebläht und enthält aggregierte Mikrosomenhaufen (Abb. 4), dunkle, nicht näher definierbare Areale, Membranen, Mitochondrien und Proplastiden. Es läßt sich nicht entscheiden, wieweit hier natürliche Zustände vorliegen und wieweit es sich lediglich um ein durch gesteigerte Fixierempfindlichkeit bedingtes Artefakt handelt.

Plasmodesmen treten, wie im Normalgewebe, solitär oder zu Tüpfeln aggregiert auf. Durch diese kontinuierlichen, plasmatischen Zellverbindungen können Elemente des ER ziehen.

Kristallkörper und Lipoidtropfen, tote Einschlüsse des Plasmas, sind in Tumorzellen eher selten. Die Kristalle liegen im Innern eines Bläschens und stellen wahrscheinlich seinen auskristallisierten Inhalt dar.

Abb. 5. Jungchloroplast mit eingeschlossenem Mitochondrium. Fix. OsO_4, Vergr. 21 000×

Abb. 6. Proplastid mit eingeschlossenem Mitochondrium (→). Fix. OsO_4 + $KMnO_4$, Vergr. 22 000×

Abb. 7. Invaginationsproplastid IP, die Wand der Höhlung besteht aus einer Doppellamelle (→). Golgi-Komplex GO. Fix. OsO_4, Vergr. 34 000×

Abb. 8. Teil einer 4 Tage alten Tumorzelle aus dem Rindenparenchym. Gleicher Invaginationsproplastid wie in Abb. 7, aber andere Schnittebene; bei (→) ist die Mündung sichtbar. Daneben Plastid in Teilung, Proplastid PP und mit Mikrosomen besetzte ER-Lamellen ER. Fix. OsO_4, Vergr. 11 000×

Damit sind, die Plastiden ausgenommen, alle Zellorganellen besprochen. Wir wollen zusammenfassend festhalten, daß sie ohne wesentliche Abweichungen die Verhältnisse der Normalzellen wiedergeben, mag auch das zahlenmäßige Auftreten einzelner Bestandteile gelegentlich variieren.

Von dieser weitgehenden Gleichheit der Strukturen sind die Plastiden auszunehmen. Man trifft zwar auch im Tumorkambium die für Normalgewebe typischen Proplastiden — hier allerdings oft in Mehrzahl perlschnurartig aneinandergereiht — und Jungchloroplasten, gleichzeitig treten aber in ein und derselben Zelle noch neue Formen auf, welche im Normalkambium fehlen: Invaginationsformen, hypertrophierte Proplastiden und Plastiden mit Einschlußkörpern.

Invaginationsformen nennen wir Proplastiden oder Jungchloroplasten, die eine unregelmäßig geformte Einstülpung besitzen. Das darin enthaltene Zytoplasma (Abb. 7) kann Mitochondrien (Abb. 5, 6) führen und besitzt eine höhere Dichte als das umliegende Plasma, da es vermutlich weniger der auswaschenden Wirkung beim Fixieren und Entwässern ausgesetzt ist. Die Mündung dieses doppelwandigen Hohlraums ist im Schnitt meist nicht getroffen (vgl. Abb. 7 und 8, welche den gleichen Proplastiden in verschiedenen Schnittebenen darstellen); man findet deshalb öfters Grundplasmabezirke oder gar Mitochondrien, die scheinbar isoliert mitten in einem Plastiden liegen (Abb. 5). Obwohl diese Invaginationsformen nicht selten auftreten, sind sie doch kein regelmäßiges Strukturelement aller Kambiumzellen.

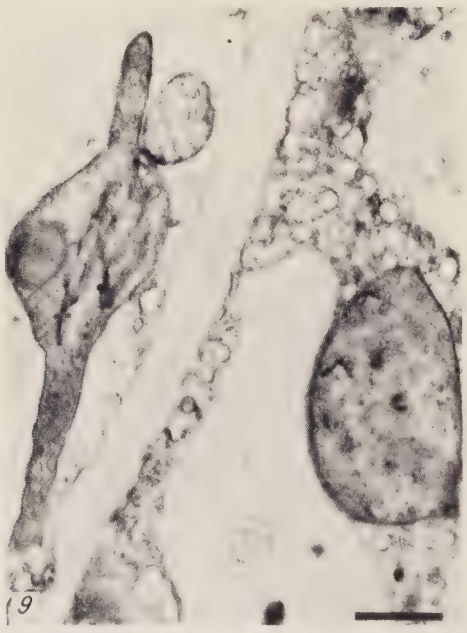

Abb. 9. Rechts ein hypertrophierter Proplastid, links ein amöboider Einschlußkörper-Plastid. Fix. OsO_4, Vergr. 11 000×

Hypertrophierte Proplastiden (Abb. 9) werden mehrere μ groß, enthalten indessen nur vereinzelte, unregelmäßig ausgebildete Lamellenstücke; ihre innere Differenzierung scheint blokkiert. Sie weisen somit eine gewisse morphologische Verwandtschaft mit den Geleitzellen auf (HOHL 1960). Wie die Invaginationsformen, so sind auch die hypertrophierten Plastiden kein allen Zellen gemeinsames Strukturelement.

Plastiden mit Einschlußkörpern (Abb. 10) sind das auffälligste Organell der Tumorkambiumzelle. Die Einschlüsse sind 0,2 bis 2 μ, meistens etwa 1 μ groß. Die rund-

lichen Körper, bei Osmiumsäure- wie bei Permanganatfixierung homogen strukturiert, sind von einer etwa 70 Å dicken, einfachen Membran umgeben. Sie treten, einzeln oder in Gruppen, in allen Stadien, vom jungen Proplastiden (Abb. 12) bis zum ausgewachsenen Plastiden (Abb. 13), auf, wobei sie eventuell vorhandene Lamellen verdrängen (vgl. Abb. 10 und 11). Die Plastidenteilung scheint durch das Auftreten von Einschlußkörpern unbeeinträchtigt. Sie selbst teilen sich nach unseren bisherigen Beobachtungen nicht.

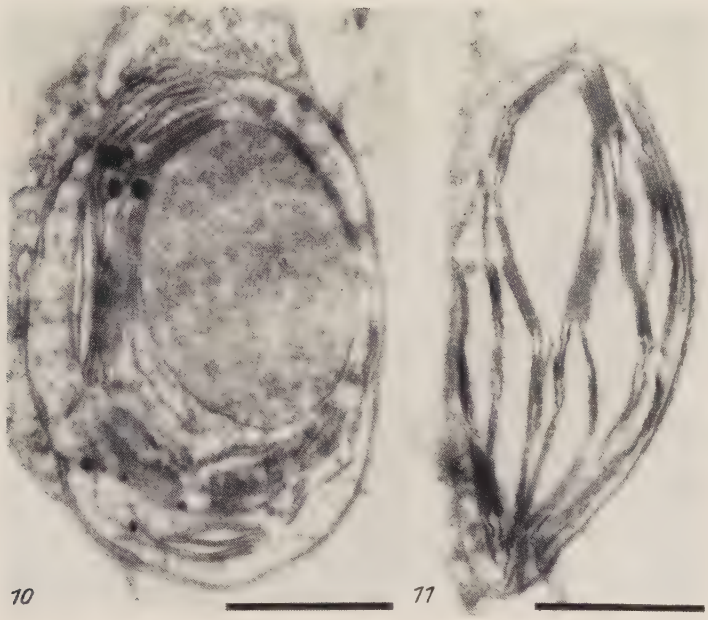

Abb. 10. Einschlußkörperplastid. Erklärung im Text. Fix. OsO_4, Vergr. 22 000×
Abb. 11. Normaler Plastid auf gleicher Entwicklungsstufe wie Plastid von Abb. 10. Fix. $KMnO_4$, Einbettung in Methacrylat, Vergr. 22 000×

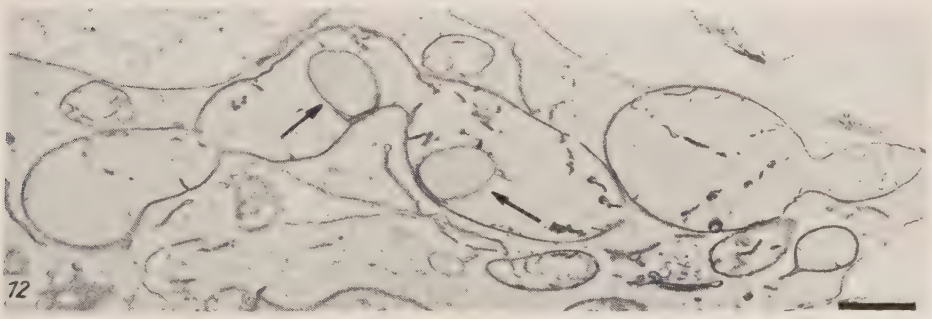

Abb. 12. Gruppe von Proplastiden; zwei davon enthalten je einen Einschlußkörper (→) Fix. $KMnO_4$, Vergr. 10 000×

In der gleichen Zelle kommen Einschlußkörper-Plastiden und Normalformen vor. Kambiumzellen eines 3 Wochen alten Tumors enthalten schätzungsweise in etwas mehr als der Hälfte, nicht aber in allen Plastiden Einschlußkörper. Genauere quantitative Angaben sind kaum möglich, da bei der Schnittdicke von wenigen hundert Å und einer Schnittfläche von etwa $^1/_{100}$ mm² immer nur ein Ausschnitt weniger Zellen betrachtet werden kann (vgl. Diskussion über das quantitative Auftreten des „Primärgranum" bei HEITZ 1957 und SITTE 1958).

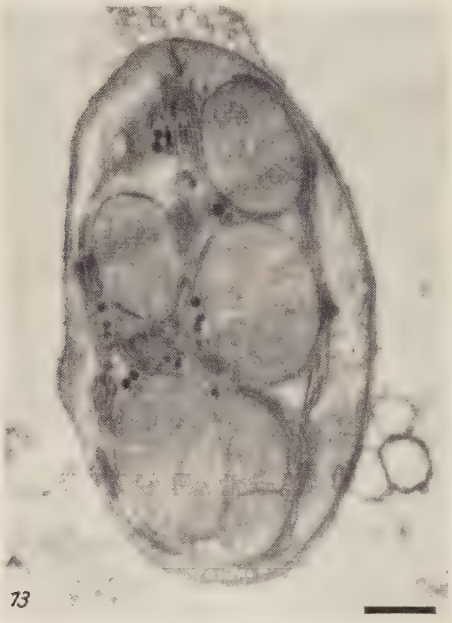

Abb. 13. Plastid mit mehreren Einschlußkörpern aus einer Tumorparenchymzelle. Fix. OsO_4, Vergr. 9000×

Diese Einschlußkörper-Plastiden bilden das Merkmal aller Kambiumzellen des Tumors; dies im Gegensatz zum sporadischen Auftreten von Invaginations- und hypertrophierten Proplastiden.

In schlecht fixierten Zellen (vor allem Permanganatfixierung) können Schrumpfungen des Plastidenstromas Einschlußkörper vortäuschen. Auch größere osmiophile Tropfen oder Invaginationen (Wand doppelt gebaut, vgl. Abb. 7) dürfen nicht mit ihnen verwechselt werden.

Neben den erwähnten Abweichungen von den Normalplastiden kann man auch kleinere, weniger ausgeprägte Störungen feststellen, z. B. konzentrische Lamellen mit radiären Verbindungen, die im Innern von Proplastiden liegen, wie dies SCHNEPF (1960) für Proplastiden aus Drüsenzellen von *Drosophyllum* beschreibt.

Alle unsere Versuche, in Tumoren von *Datura stramonium* virusartige Partikeln nachzuweisen, sind bis jetzt negativ verlaufen. Dagegen haben wir Aggregate solcher Partikeln in mehrere Monate alten Crown-Gall-Tumoren von *Kalanchoë Blossfeldiana* gefunden, wo sie in lokal begrenzten Bezirken in großer Zahl auftreten. Die Aggregate liegen im Innern von Plastiden (Abb. 14 a). Sie sind 2 bis 4 μ lang und 0,7 μ breit und bestehen aus zahlreichen parallel gelagerten Partikeln (Abb. 14 b), die einschichtig in hexagonaler Packung angeordnet sind (Abb. 14 c). Die Einzelpartikeln sind etwa 700 mμ lang, ihre Dicke (Abstand der Gitterpunkte) beträgt 17 bis 18 mμ. Während Messungen an Querschnitten einen Abstand der Partikelmitten von 18 mμ ergeben, findet man in Längsschnitten oft ein Linienmuster mit einer Periode von etwa 15 mμ. Die Diskrepanz erklärt sich leicht, wenn man bedenkt, daß die übliche Schnittdicke von einigen hundert Å zwei bis mehreren Partikelabständen

entspricht. Von den beiden nun noch in Frage kommenden Möglichkeiten einer Abbildung des Gitters im Längsschnitt haben wir diejenige mit einer Periode von einem halben Partikelabstand nie beobachtet; die zweite Möglichkeit mit $\frac{\sqrt{3}}{2}$ entspricht der erwähnten Gitterperiode von 15 mμ.

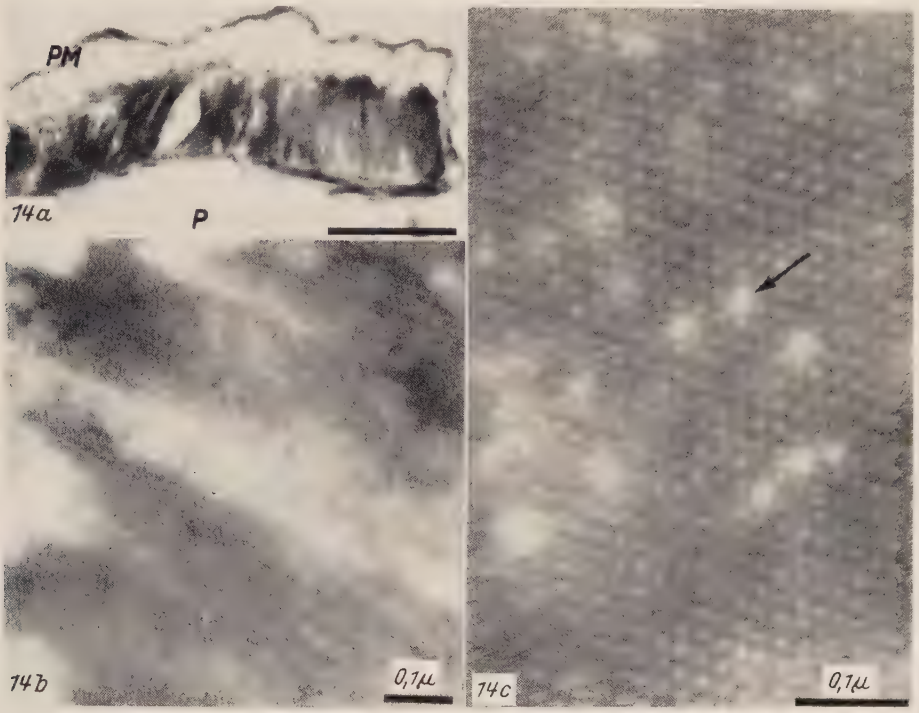

Abb. 14. Aggregate virusartiger Partikeln in 3 Monate alten *Kalanchoë*-Tumoren. Erklärung im Text. a. Übersicht, Einzelpartikel längs getroffen, nur undeutlich erkennbar. Der größte Teil des Plastiden P liegt außerhalb des Bildes. Plastidenmembran PM. Fix. OsO_4, Vergr. 17 000×. b. Partikel im Längsschnitt. Fix. OsO_4, Vergr. 90 000×. c. Partikel im Querschnitt, hexagonal geordnet. Größere weiße Punkte (→) stellen wahrscheinlich Leerstellen im Gitter dar. Fix. OsO_4, Vergr. 150 000×

Die beobachtete Feinstruktur läßt zwei Deutungen zu: 1. Stäbchenförmige Partikeln mäßiger Dichte heben sich von den dichten, mit Kontrastmittel erfüllten Zwischenräumen ab (Negativ-Kontrastierung, vgl. Brenner and Horne 1959). 2. Die Teilchen besitzen Röhrenstruktur.

2. Tumorparenchym

Es läßt sich allgemein feststellen, daß sich beim fließenden Übergang vom Kambium zum Parenchym im Tumor die gleichen Vorgänge abspielen wie im Normalgewebe (Hohl 1960): Weitere Reduktion des Plasmasaumes, Reduktion des ER auf einzelne Lamellenfragmente. Das Grund-

plasma ist auch beim Tumorparenchym, optimaler Zustand vorausgesetzt, kompakt gebaut und enthält Mikrosomen in unverminderter Zahl; ja diese scheinen manchmal in größerer Menge als im Normalgewebe aufzutreten.

Bei den Plastiden findet man Normal- und Einschlußkörper-Typen. Ihre Entwicklung ist etwas gehemmt und die Differenzierung geht in der Regel nicht über das Stadium des Jungchloroplasten hinaus; mit zunehmendem Alter der Tumoren wird sie noch früher abgeschlossen. Es treten nun nicht selten auch Proplastiden auf, was bei den Parenchymen der Normalgewebe nicht der Fall ist. Die Einschlußkörper-Plastiden können sehr groß werden (Abb. 13) und zahlreiche Einschlüsse ausbilden.

Die übrigen Zellbestandteile, Kern, Mitochondrien, Sphaerosomen, Golgi-Komplexe, Plasmodesmen, Kristallkörper und Lipoidtropfen zeigen gegenüber dem Kambium keine Veränderungen.

3. Meristematische Teilungszentren

Die vorwiegend in der parenchymatischen Außenzone des Tumors gelagerten Teilungszentren bestehen außen aus Kambiumzellen, deren Struktur wir bereits geschildert haben. Gegen das Zentrum zu nehmen diese Zellen immer mehr den Aspekt primärer Meristemzellen an. Abbildung 15 zeigt eine dieser völlig undifferenzierten Zellen. Besonders hervorzuheben ist, daß nach den bisherigen Befunden diese Zellen weitgehend frei von Einschlußkörper-Plastiden sind. Mitten im Tumor scheinen sich also morphologisch völlig normale primäre Meristemzellen zu bilden.

Abb. 15. Völlig undifferenzierte Zelle aus einem meristematischen Teilungszentrum. Proplastiden (→) ohne Einschlußkörper. Kern K. Fix. $KMnO_4$, Vergr. 4000×

4. Tumorphloem

Im ersten Teil dieser Arbeit haben wir dargelegt, wie sich die Siebröhre durch ihre Plastiden, ihr Plasma und ihre Siebplatten leicht von den übrigen Zelltypen unterscheiden läßt. Die Plastiden sind klein und enthalten große, osmiophile Kugeln; das Grundplasma ist lamellär gebaut. Unter Beachtung dieser Merkmale lassen sich auch im Tumor, am

Kambiumaußenrand, Siebzellen nachweisen. Ihrer äußeren Form nach sind sie jedoch von parenchymatischen Zellen kaum zu unterscheiden, auch fehlen ihnen die typisch ausgebildeten Geleitzellen. Benachbarte Siebzellen können durch Siebplatten miteinander in Kontakt stehen. Mitunter lassen sich Übergänge zu röhrenförmigen Siebzellen feststellen, die dann auch besser ausgebildete Geleitzellen besitzen.

5. Diskussion

In der großen Zahl histologischer Arbeiten über pflanzliche Tumoren (Übersichten bei Buvat 1944—45, Braun and Stonier 1958, Kupila 1958) finden sich wenig zytologische Angaben, von denen sich überdies die meisten auf die Kernverhältnisse (Polyploidie, Teilungsstörungen) beziehen.

Nach Milovidov (1930) und Banfield (1935) zeigen die Tumormitochondrien keine morphologischen Unterschiede gegenüber den Normalmitochondrien. Fogelberg et al. (1957) dagegen beobachteten, daß sich die Mitochondrien der Tumorzellen zu Ketten und Fäden ordnen. Ein solches Aneinanderreihen mehrerer gleichwertiger Körperchen haben wir nur bei den Proplastiden — die von gleicher Größenordnung wie die Mitochondrien sind —, nicht aber bei den Mitochondrien vorgefunden. Schließlich beschreibt Buvat (1944—45) eine bei der Tumorbildung einsetzende reversible „vésiculation" und Segmentierung der Chondriosomen in kurze Stäbe oder „granules". Gleichzeitig sollen sich die ausdifferenzierten Plastiden durch starke Teilungen wieder in Chondriosomen zurückverwandeln, wobei sie zuerst die paraplasmatischen Bestandteile (Stärke, Pigmente) resorbieren.

Unsere Beobachtungen über das Fehlen von Stärkekörnern stimmen nicht nur mit den Angaben von Buvat (1944—45) überein, sondern decken sich auch mit den Befunden von Blass et Manigault (1950), die papierchromatographisch keine Stärke nachweisen konnten. Dieser Sachverhalt dürfte mit einer verstärkten Amylase-Aktivität der Tumorgewebe (Brakke and Nickell 1955) in Beziehung stehen. Das Fehlen von Stärke in Tumoren ist jedoch nicht obligat, denn in Tabak-Tumoren finden sich Plastiden mit Stärke (vgl. Tab. 2), und auch Schmidt und Brucker (1959b) weisen in Einzell-Schüttelkulturen von *Datura innoxia*-Tumoren reichlich Stärke nach.

Das Auffallendste an *Datura*-Tumoren ist das Vorkommen von Plastidentypen, die im gesunden Stengel fehlen. Ein Auftreten zusätzlicher Strukturen in Tumoren ist bereits von Braun und Stonier (1958) auf Grund experimenteller Befunde an Teratomen vermutet worden. In unserem Fall gilt die Aufmerksamkeit besonders den Einschlußkörper-Plastiden, die in der gleichen Zelle neben den normalen auftretend, eine eigene parallele Plastidenentwicklungsreihe verkörpern.

Wenn auch konkrete Angaben über die chemische Natur dieser Einschlußkörper nicht vorliegen, läßt doch ihr elektronenmikroskopischer

Aspekt eine eiweißartige Substanz vermuten. Es sei daran erinnert, daß CAMUS, WILDMAN und BONNER (1951) in Tumorzellen spezifische Proteine finden; ferner beschreibt LIORET (1957) eine tumorspezifische, nicht näher identifizierte Aminosäure, die in großen Mengen auftritt.

Die Frage nach einer möglichen Beteiligung des Phloems am Tumoraufbau wird unterschiedlich beantwortet. Nach DE ROPP (1951) fehlt das Phloem in den Tumoren, nach KUPILA (1958) kann es jedoch regelmäßig nachgewiesen werden. BRAUN und STONIER (1958) bezeichnen sein Schicksal als „obscure". Eine ähnliche Problematik besteht auch beim Virustumor (KELLY and BLACK 1949, LEE 1955, LEE and BLACK 1955). Nach diesen Autoren wird der Ausdruck „Phloem" tumorhistologisch oft nur in topographischem Sinne verwendet und ist damit seines morphologischen Sinnes entfremdet. Sie schlagen deshalb den Ausdruck „Pseudophloem" vor.

Die Unsicherheit in der Beurteilung des Phloems rührt wohl zum Teil daher, daß sein lichtmikroskopischer Nachweis sich oft nur auf die äußere, röhrenförmige Gestalt der Siebzelle und die typische Assoziierung mit der anliegenden, plasmareichen Geleitzelle stützt. Im Tumorgewebe sind gerade diese Kennzeichen stark verwischt. Während die innere Differenzierung der Siebzelle ungehindert abläuft, bleibt ihre äußere Form mehr oder weniger isodiametrisch. Damit sind die Verhältnisse bei Phloem und Xylem durchaus miteinander vergleichbar.

Über das intrazelluläre Vorkommen pflanzlicher Viren geben nur wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen Aufschluß. WEHRMEYER (1959 a, b) beschreibt die Zytomorphologie tabakmosaikinfizierter Tabakpflanzen und findet, daß die Viren zu fibrillären Aggregaten geordnet als Schleifen, Fadenbündel oder Prismen im Plasma liegen, wobei die einzelnen Viruspartikeln in dichter Packung parallel gelagert sind. Die Viren treten nur im Plasma, nicht aber in den Plastiden auf. Beobachtete Plastidenschädigungen sind sekundärer Natur. SHALLA (1959) untersucht die Feinstruktur von X-bodies tabakmosaikinfizierter Zellen. Die Viren treten in fibrillären Massen auf, die den völlig amorphen X-bodies angelagert sind. Nach Beobachtungen von LEYON (1953) lassen sich in isolierten und beschatteten Plastiden virusinfizierter Blätter filamentöse Partikeln nachweisen. Auch ZAITLIN und BOARDMAN (1958) kommen an Hand von Fraktionierungsversuchen zum Schluß, daß mindestens ein Teil der Tabakmosaik-Viren mit den Chloroplasten assoziiert ist. Nach POZSAR (1957) geht der RNS-Gehalt von Plastiden infizierter Zellen (*Abutilon* Mosaik-Virus) stark zurück, was auf einen Aufbau der Viren aus Plastidenmaterial schließen läßt.

Eine Einordnung der von uns beschriebenen virusartigen Partikeln in das von BRANDES und WETTER (1959) aufgestellte morphologische Klassierungsschema ist zur Zeit nicht möglich. Allerdings ist zu beachten, daß sich ihr Schema auf Messungen an isolierten Viren stützt, während sich unsere Angaben auf Beobachtungen *in situ* beziehen.

III. Sekundärtumor

Eigene Untersuchungen. Die auf *Datura stramonium* beobachteten sekundären Tumoren sind bedeutend kleiner als die primären und bilden stecknadelkopfgroße Auswüchse am Stengel. Sie können auch im Stengelinnern verborgen bleiben. Konzentrisch gebaut, enthalten sie im Zentrum lignifizierte Elemente, an die sich ein Kambium mit Bezirken erhöhter Aktivität und eine parenchymatische Außenzone anschließen. Elektronenmikrokospisch lassen sich folgende Befunde erheben:

Das Kambium ist im wesentlichen gleich gebaut wie dasjenige des Primärtumors. Insbesondere gilt dies für die verschiedenen Plastidenformen. Wieder treten Normal- und Einschlußkörper-Plastiden nebeneinander in der gleichen Zelle auf.

Siebzellen ließen sich in den bisher untersuchten, noch jungen Sekundärtumoren nicht finden, doch dürfte dies eher auf deren geringes Alter als auf prinzipielle Unterschiede zum Primärtumor zurückzuführen sein, fehlen doch auch in jungen Primärtumorstadien die Phloemelemente.

Die meristematischen Teilungsbezirke gleichen, wie beim Primärtumor, nach innen mehr und mehr dem primären Meristem. Gleichzeitig vermindert sich die Zahl der Einschlußkörper-Plastiden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Primär- und Sekundärtumor sich feinstrukturell nicht unterscheiden.

Diskussion. Sekundärtumoren sind beim Crown-Gall nicht häufig, wurden aber an vielen Pflanzenarten beobachtet (Tamm 1954). Über ihre Entstehung gibt es noch verschiedene Ansichten. Das ursprünglich von Smith (1922) in Analogie zu den tierischen Metastasen vermutete strangartige Auswachsen des Primärtumors ließ sich nicht bestätigen (Braun 1941). Ob aber vielleicht in beschränktem Ausmaße ein geringes Tumorwachstum durch Umwandlung angrenzender Normalgewebe möglich ist, wird noch erwogen (Camus et Gautheret 1948 a, de Ropp 1948 a, Manigault et Salmon 1956).

Viele Argumente sprechen jedoch dafür, daß die Induktion analog zum Primärtumor verläuft (z. B. Rack 1954, Tamm 1954). Die Bakterien wandern nämlich im Stengelgewebe über weite Strecken (de Ropp 1948 b) und eine zufällige Wunde führt, dies läßt sich durch steriles Einstechen überprüfen (Stapp 1953, Rack 1954), zur Bildung eines neuen Tumors. Weiter wird diese Ansicht durch den Tatbestand gestützt, daß nach Transplantation von bakterienfreiem Tumorgewebe in junge Pflanzen noch nie Sekundärtumoren beobachtet wurden (Schmidt und Brucker 1959 b). Daß die Größe des Tumors von der Wundgröße abhängig ist (Hamdi 1930, Hildebrand 1942), deutet ebenfalls auf eine kleinste Wunde als Ausgangspunkt der Sekundärtumorbildung hin. Die physiologische (Braun and White 1943) und morphologische (z. B. Bieber und Wartenberg 1957) Gleichartigkeit von Primär- und Sekundärtumoren stimmt gut mit unseren Befunden über deren Feinstruktur überein.

IV. Wundgewebe

Eigene Untersuchungen. Wird der Stengel von *Datura stramonium* mit einer sterilen Kapillare bis zum Mark angestochen, beginnen sich nach etwa 2 Tagen die Kambiumzellen, dann die Rindenparenchymzellen und nach etwa 4 Tagen die Rindenkollenchym- und Markzellen zu teilen. Da die neugebildeten Zellwände meist parallel zur Wundoberfläche orientiert sind, bildet sich ein Wundkambium, das die Wunde abschließt. Bereits nach einer Woche haben das Kambium und das Gebiet des intraxylären Phloems meristematische Teilungszentren gebildet, während sich die Zellen der Rinde und des Marks bedeutend weniger intensiv teilen. Lignifizierte Elemente treten zu diesem Zeitpunkt nicht auf. Die elektronenmikroskopische Untersuchung einer 8 Tage alten Wunde ergibt folgendes:

Das Wundkambium enthält die gleichen Strukturen wie das Tumorkambium. Dies gilt besonders für die verschiedenen Plastidentypen: Hypertrophierte Proplastiden treten selten, Invaginationsformen häufiger, Einschlußkörper-Plastiden und Normalplastiden (mit Ausnahme differenzierter Chloroplasten) regelmäßig auf. Die ersten Einschlußkörper-Plastiden lassen sich bereits 24 h nach der Verwundung feststellen (vgl. Tab. 1).

Die meristematischen Teilungszentren unterscheiden sich ebenfalls nicht von denen des Tumorgewebes; einzelne Zellen sind bereits zu primären Meristemzellen dedifferenziert, Einschlußkörper-Plastiden sind selten. Neu gebildetes, atypisches Phloem läßt sich zu diesem Zeitpunkt nicht — noch nicht? — nachweisen.

Diskussion. BLOCH (1941, 1952, 1954) hat in verschiedenen Arbeiten die Befunde über Wundheilreaktionen zusammengestellt. Dabei weist er ausführlich auf die engen Beziehungen und die weitgehende Ähnlichkeit von Wundgewebe und Tumor hin (vgl. auch RIKER 1927). Nach ihm läßt sich der Tumor als Ergebnis einer übersteigerten Wundheilreaktion auffassen, da auch die gewöhnliche Wunde durch einfache Veränderung externer Faktoren (z. B. Feuchtigkeit) zu „quite substantial atypical tissue proliferation" stimuliert werden kann.

Nach BRAUN (1947) ist die Tumorinduktion nur von 24 h bis etwa 5 Tage nach der Verwundung möglich. Wesentliche Eigenschaften der konditionierten Zelle müssen bereits in dieser Zeitspanne nachweisbar sein. Über die Frühphasen der Wundheilung ist man aber noch sehr wenig orientiert. Aus dem Wundsaft lassen sich zellteilungsaktive Substanzen, z. B. Traumatin (ENGLISH et al. 1939, TRESHOW 1955) und die bereits 3 h nach der Verletzung auftretende Indolessigsäure (HEMBERG 1947) nachweisen. Das nach KLEIN und THOMAS (1959) ebenfalls im Wundsaft auftretende 5-Methyl-Cytosin soll bei der Synthese des tumorinduzierenden Prinzips eine Rolle spielen.

Zu den frühesten Reaktionen der Wundrandzellen gehören die von ZIEGLER (1954) beschriebene Temperaturerhöhung, die Verla-

gerung von Plasma und Kern gegen den Wundrand und eine Vergrößerung des Kernvolumens. Diese Vorgänge werden bereits wenige Minuten bis Stunden nach der Verletzung ausgelöst. BABA (1958) berichtet über die Aktivierung von Phenoloxydasen in 24 h alten Wundgeweben. Permeabilitätsstörungen der Wundrandzellen (BRAUN 1952) könnten durch die auftretende Indolessigsäure bedingt sein (GUTTENBERG und BEYTHIEN 1951, SACHER and GLASZIOU 1959). Nach KLEIN et al. (1953) und RASCH et al. (1959) erleidet der Nukleinsäurehaushalt in den ersten Tagen der Wundheilung erhebliche Störungen. Die den Wundreiz beantwortenden histologischen und zytologischen Veränderungen, so die Bildung eines Abschlußgewebes, die Regeneration von Xylem (SINNOTT and BLOCH 1945, JACOBS 1952) und Phloem (ESCHRICH 1953) setzen meist erst dann ein, wenn die Konditionierung bereits am Abklingen ist. Sie kommen deshalb als Konditionierungsfaktoren nicht in Frage. Lediglich die von MANIGAULT und SALMON (1956, 1958) beobachtete, 3 bis 5 Tage nach der Verwundung einsetzende Bildung „opaker" Substanzen (Radioautogramm, P^{32}) in Interzellularen und Gefäßen kann möglicherweise mit der Konditionierung in Zusammenhang gebracht werden. Die Einschlußkörper-Plastiden sind bereits 24 h nach der Verwundung nachweisbar und werden damit dem oben erwähnten Kriterium gerecht. Ihre mögliche Bedeutung als Vorbedingung der Tumorgenese soll in der Schlußdiskussion eingehend erörtert werden.

V. Gewebekultur

Eigene Untersuchungen. Gewebekulturen von *Datura stramonium* zeigen im wesentlichen die gleichen histologischen Verhältnisse wie der Primärtumor (Abb. 2). Man findet auch hier Kambien, Grundparenchym, meristematische Teilungszentren, atypisches Phloem und lignifizierte Elemente.

Unser Untersuchungsgut umfaßt primäre Kallusbildungen, mehrfach übertragene Gewebe und solche, die nach der ersten Überimpfung während 10 Monaten nicht mehr übertragen wurden. Vorgängig sei bemerkt, daß die Farbe der Kulturen stark belichtungsabhängig ist: bei völliger Dunkelheit bleichen sie aus, bei Belichtung zeigen sie alle Übergänge von weiß bis grün. Unsere Beobachtungen beschränken sich auf blaßgrüne Stadien und dürfen nicht verallgemeinert werden.

Kambium, meristematische Teilungszentren, Phloem und Grundparenchym primärer Kallusbildungen und regelmäßig übertragener Kulturen besitzen die gleichen Feinstrukturen wie der Primärtumor; allerdings sind im Kambium und im Parenchym die Einschlußkörper-Plastiden weniger häufig. Im Parenchym nimmt die Differenzierungshöhe der Plastiden mit zunehmendem Alter der Kulturen ab.

In Kulturen, die während 10 Monaten nicht mehr übertragen wurden, tritt ein neuer Plastidentyp auf: Zwischen spärlichen La-

mellen liegen wenige große osmiophile Tropfen (Abb. 16 c). Übergangsformen enthalten bei ausgeprägter Lamellierung viele kleine Tropfen (Abb. 16 a). Von dieser Strukturänderung werden normale (Abb. 16 a) und Einschlußkörper-Plastiden (Abb. 16 b) betroffen.

Diskussion. Das Ergebnis, daß Gewebekulturen, die regelmäßig überimpft werden, auch nach einem Jahr noch Einschlußkörper-Plastiden enthalten, überrascht nicht, weil bei jeder Übertragung das Gewebe neu verwundet und somit wieder zur Einschlußkörperbildung stimuliert wird. Daß aber die während 10 Monaten nicht übertragenen Kulturen noch Einschlußkörper-Plastiden enthalten, bestätigt die Stabilität dieser Bildungen; einmal durch die Verwundung induziert, bleiben sie erhalten.

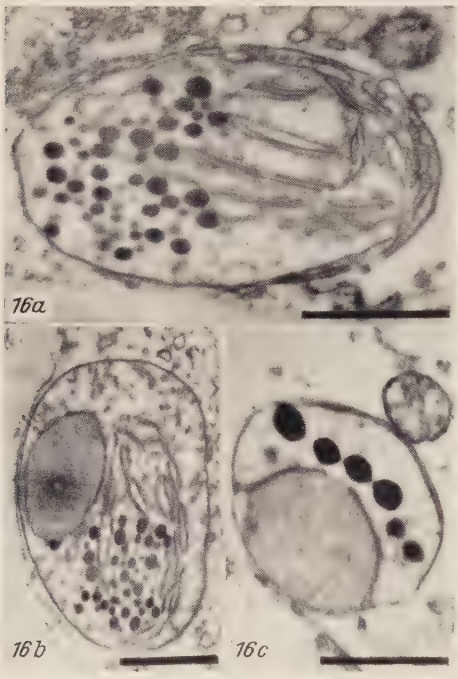

Abb. 16. Plastiden aus Gewebekulturen. Erklärung im Text. a. Übergangsstadium. Fix. OsO_4, Vergr. 20 000×. b. Übergangsstadium mit Einschlußkörper. Fix. OsO_4, Vergr. 13 000×. c. Endstadium mit Einschlußkörper. Fix. OsO_4 Vergr. 17 000×

Nach unseren Untersuchungen nimmt mit zunehmendem Alter der Kulturen der Differenzierungsgrad der Plastiden ab. Wenn die Kulturen nicht mehr überimpft werden, bildet ein Teil der Plastiden osmiophile Tropfen aus, was auf eine nun einsetzende Degeneration durch Entmischung der inneren Strukturen schließen läßt. In jahrealten Kulturen von *Vitis* Crown-Gall-Gewebe findet man sogar nur noch Proplastiden und im Plasma eingebettet zahlreiche, über 1 μ große Fettkörperchen.

Die von uns untersuchten *Datura*-Gewebe stellen nicht Gewebekulturen im eigentlichen Sinne dar, denn solche müssen nach WHITE (1939) unbegrenzt wachsen und dürfen keine inneren Differenzierungen aufweisen. Unsere Kulturen zeigen — wie ein großer Teil aller Gewebekulturen — Differenzierungen; auch haben wir ihr nicht sehr rasches Wachstum erst über eine Periode von 15 Monaten verfolgt. Die erwähnten Mängel sind für unsere Fragestellung nicht relevant, da es uns hauptsächlich um den Vergleich von einige Wochen alten Tumoren mit gleichalten Gewebekulturen geht.

Wir haben gefunden, daß Gewebekulturen wie Primärtumoren ein atypisches Phloem besitzen. Nach Angaben von SCHMIDT und BRUCKER (1959 a) enthält die Gewebekultur von *Datura innoxia* Mill. kein Phloem. Auch bei *Datura stramonium* läßt sich das Phloem lichtmikroskopisch nur

schwer feststellen. Ob *Datura innoxia*-Kulturen — und mit ihnen viele andere — ein atypisches Phloem besitzen, ist noch ungeklärt.

Bemerkenswert ist der Umstand, daß Gewebekulturen offensichtlich nicht eine kallusartige Ansammlung von Normalzellen sind, sondern den Aspekt hyperplastischer Gewebe zeigen. Sie sind somit eher als Kulturen von Wundgewebe zu betrachten. Der oft gemachte Vergleich von Gewebekulturen mit Tumorgeweben beleuchtet somit nicht den Unterschied zwischen Normal- und Tumorgewebe, sondern eher den zwischen Wund- und Tumorgewebe (vgl. GAUTHERET 1959).

Daß in den Gewebekulturen Feinstrukturen des Tumors vorgebildet sind, trägt vielleicht zum Verständnis der „tissus accoutumées" (GAUTHERET 1946, MOREL 1948, KANDLER 1952, LANCE et GAUTHERET 1952) bei. Solche Gewebe wurden bekanntlich durch langdauernde Indolessigsäure-Gaben zu krebsartigen (vgl. CAMUS et GAUTHERET 1948 b, BRAUN and MOREL 1950), wuchsstoffautonomen Geweben umgestimmt, ein Phänomen, das HUXLEY (1958) mit der Umwandlung tierischer Zellen durch cancerogene Stoffe vergleicht. Ist die Ursache der Umstimmung hier eine Mutation (MOREL 1948) oder eine enzymatische Adaptation (GAUTHERET 1946)? Für den zweiten Fall spricht der Umstand, daß bis zu 85 % gewisser Kulturen umgestimmt werden können (GAUTHERET 1957).

Jedenfalls verringert das erwähnte Auftreten von Tumorfeinstrukturen in Gewebekulturen die Zahl der für ihre krebsige Umwandlung notwendigen Schritte.

VI. Einschlußkörperplastiden

Die Einschlußkörper-Plastiden bilden das auffallendste morphologische Merkmal der hyperplastischen Gewebe. Es wurde deshalb versucht, noch einige weitere Fragen über deren Bildung und Verbreitung zu beantworten:

1. Wann und wo treten in Wundheilung und Tumorgenese die ersten Einschlußkörper-Plastiden auf (Minimale Umstimmungszeit)? Zeigen sich andere erste Plastidenveränderungen?

2. Wie verschiebt sich das zahlenmäßige Verhältnis von Einschlußkörper-Plastiden zu den normalen bei Wundheilung und Tumorgenese in den verschiedenen Geweben (Vermehrung und Persistenz)?

3. Welche Stadien der normalen Plastidendifferenzierung können zur Einschlußkörperform umgewandelt werden (Umstimmbare Plastidenstadien)?

4. Wird die Umstimmung zu Einschlußkörper-Plastiden bei höheren Temperaturen unterbunden (Umstimmung und Temperatur)?

5. Bilden auch Gewebe anderer Pflanzen Einschlußkörper-Plastiden (Gewebe- und Artenspektrum)?

Die Verhältnisse in steril induzierten Tumoren (MANIGAULT et STOLL 1960) werden in einer gesonderten Arbeit behandelt (v. ALBERTINI et al. 1961).

1. Minimale Umstimmungszeit

Untersucht man Wund- und Tumorgewebe nach einer Stunde, einem, 2 und 4 Tagen auf die Bildung von Einschlußkörper-Plastiden, so ergibt sich folgendes (vgl. Tab. 1): Die ersten Einschlußkörper treten nach 24 h im Kambium auf. Zu diesem Zeitpunkt haben die Neuteilungen der Kambiumzellen noch nicht eingesetzt. Umgestimmte Plastiden finden sich also kurz vor den ersten Wundteilungen, und zwar gleichzeitig in verschiedenen Zellen.

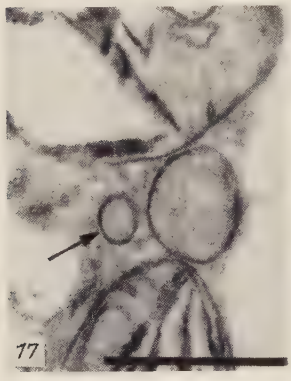

Abb. 17. Initialköperchen (→) in einer Parenchymzelle, 24 h nach Verwundung. Fix. OsO_4 + $KMnO_4$, Vergr. 24 000×

In den übrigen untersuchten Stengelgeweben erfolgt die Umstimmung später: im Rindenparenchym nach 2 Tagen, im Rindenkollenchym nach 4 Tagen. Im Mark fanden wir nur in den äußersten, dem intraxylären Phloem anliegenden Bezirken Einschlußkörper-Plastiden, während die Hauptmasse des Markes auch nach 4 Tagen keine ausgebildet hatte. In späteren Stadien können die sich teilenden Zellen nicht mehr eindeutig einem bestimmten Herkunftsgewebe zugeordnet werden. Es läßt sich deshalb nicht entscheiden, ob im Mark später nicht doch noch eine Umstimmung eintritt. Markzellen im Teilungsgebiet enthalten jedoch Invaginationsformen. Da histologisch ein verzögertes Einsetzen der Zellteilungen gegen die Stengelperipherie zu beobachten ist, erfolgt die Umstimmung auch im Rindenparenchym und Rindenkollenchym kurz vor den ersten Neuteilungen.

Als weiteres Merkmal einer Umstimmung treten 24 h nach Verletzung Initialkörperchen im wundnahen Kambium vermehrt auf (Abb. 17).

2. Vermehrung und Persistenz

Auf die großen Schwierigkeiten, quantitative Angaben über das Verhältnis normaler zu Einschlußkörper-Plastiden zu machen, haben wir bereits hingewiesen (S. 328). Bei Tabelle 1 handelt es sich somit nur um die Darstellung einer an zahlreichen Schnitten beobachteten Tendenz.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß in den ersten paar Tagen keinerlei Unterschiede zwischen Wundheilung und Tumorinduktion auftreten, und daß auch in 14 Tage alten Wundzellen der Anteil der Einschlußkörper-Plastiden noch beträchtlich ist.

Diese Angaben gelten nur für Zellen, die aktiv an der Wundregeneration teilhaben. Bereits wenige Zellreihen von der Wundoberfläche entfernt werden die Plastiden nicht mehr umgestimmt.

Tabelle 1

Zeitliches Auftreten von Einschlußkörperplastiden in Wund- und Tumorgewebe

Tage nach Inokulation	0	1	2	4	8	14	20
Wunde							
Kambium	—	+	++	+++			
Rindenparenchym	—	—	+	++	+++	++	++
Rindenkollenchym	—	—	—	+			
Mark	—	—	—	—			
Tumor							
Kambium	—	+	++	+++			
Rindenparenchym	—	—	+	++	+++	+++	+++
Rindenkollenchym	—	—	—	+			
Mark	—	—	—	—			

— keine, +++ mehr als die Hälfte, nicht aber alle Plastiden mit Einschlußkörpern.

Im Tumor lassen sich Einschlußkörper-Plastiden auch nach 6 Wochen und sogar nach 3 Monaten noch nachweisen. Sie scheinen demnach persistierende Strukturelemente der Tumorzellen zu sein.

3. Umstimmbare Plastidenstadien

Durch die in Abschnitt 1 beschriebenen Versuche ließ sich auch die Frage nach den umstimmbaren Plastidenstadien klären. Einschlußkörper treten nicht nur in den kambialen Proplastiden und Jungchloroplasten auf, sondern nach 2 bis 4 Tagen auch in den ausdifferenzierten Chloroplasten von Parenchym und Kollenchym. Somit können alle normalen Plastidenstadien zur Bildung von Einschlußkörpern angeregt werden. Ausnahmen bilden wahrscheinlich die Plastiden von Siebröhren und Geleitzellen.

4. Temperatur und Umstimmung

Bei Tomaten (Riker 1926), bei *Sedum, Bryophyllum, Nicotiana* (Riker et al. 1941), bei *Vinca rosea* (Braun 1947) und bei *Kalanchoë* (Braun and Mandle 1948) unterbleibt die Tumorbildung bei Temperaturen über 30 °C. Die Transformation konditionierter Zellen in Tumorzellen wird bei hohen Temperaturen unterdrückt, nicht aber die Konditionierung *per se*. Diese ist auch noch bei höheren Temperaturen möglich (Braun 1952). Das tumorinduzierende Prinzip könnte bei dieser erhöhten Temperatur inaktiviert werden (Braun and Mandle 1948). Da auch das Traumatin bei 36 °C nicht mehr wirksam ist (Treshow 1955), läßt sich jedoch die Möglichkeit einer veränderten Wundreaktion bei diesen Temperaturen nicht völlig ausschließen.

Wir haben deshalb Versuchspflanzen, die nach der Verwundung während 4 Tagen bei 20 bis 25 °C bzw. 31 bis 35 °C gehalten wurden, auf die Bil-

dung von Einschlußkörpern untersucht: In beiden Versuchsserien bilden sich bei der Wundheilung Einschlußkörper-Plastiden, während unter gleichen Bedingungen gehaltene inokulierte Pflanzen nur bei 20 bis 25 °C Tumoren entwickelten. Damit sind die Ergebnisse von BRAUN (1952) hinsichtlich der Temperaturunabhängigkeit der Wundheilung auch elektronenmikroskopisch bestätigt.

5. Gewebe- und Artenspektrum

Um Angaben über die Verbreitung und Spezifität der Einschlußkörper-Plastiden zu erhalten, haben wir 4 Tage alte Wunden und — in der Regel 3 Wochen alte — Tumoren verschiedener Pflanzen untersucht, wobei tumoranfällige und -resistente Arten berücksichtigt wurden. Zusätzlich prüften wir bei einigen anfälligen Wirten auch die Wundreaktionen an der Blattspreite, die ja oft keine Tumoren ausbildet. Die Resultate, in Tabelle 2 zusammengestellt, ergeben folgendes Bild:

1. In allen Tumorgeweben wird, in zum Teil noch nicht näher untersuchter Weise, die Struktur der Plastiden verändert.

2. Einschlußkörper-Plastiden in Wund- und Tumorgewebe sind weder auf *Datura* noch auf die *Solanaceae* beschränkt; sie stellen aber offenbar nicht die allein mögliche Antwort auf den Wundreiz dar.

3. Alle untersuchten Wundgewebe, die Einschlußkörper-Plastiden enthalten, bilden bei Bakterien-Inokulation Tumoren; aber auch auf Wundgeweben ohne Einschlußkörper-Plastiden können Tumoren entstehen.

Tabelle 2

Auftreten von Einschlußkörpern in Wund- und Tumorgeweben verschiedener Wirtspflanzen

Wirt	Organ	Fähigkeit zur Tumorbildung	Einschlußkörper		Bemerkungen
			Wunde	Tumor	
Bryophyllum daigremontiana Hort.	Stengel	+	—	—	Lamellenbildung der Plastiden gestört
	Blatt	+	—	—	
Datura stramonium L.	Stengel	+	+	+	
	Blatt	—	—		Plastiden unverändert
Helianthus annuus L.	Stengel	+	+	+	
Kalanchoë Blossfeldiana von Poellnitz	Stengel	+	—	—	Plastiden des Tumors mit virusartigen Partikeln
Nicotiana tabacum L.	Stengel	+	+	+	Proplastiden des Tumors mit Stärke
	Blatt	—	—		Plastiden unverändert
Solanum Lycopersicum L.	Stengel	+	?	+	Wunde nicht untersucht
Vinca rosea L.	Stengel	+	?	- -	Lamellenbildung der Plastiden gestört
Allium ursinum L.	Stengel	—	—		Plastiden unverändert
Arum italicum Mill.	Stengel	—	—		Plastiden unverändert
Paris quadrifolia L.	Stengel	—	—		Plastiden unverändert

4. In der gleichen Pflanze kann die Wundreaktion in den einzelnen Organen verschieden verlaufen.

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

I. Morphologische Probleme

Die morphologische Gleichförmigkeit der verschiedenen Hyperplasien, die sich schon aus anatomischen und histologischen Untersuchungen (vgl. Bloch 1952) ergeben hatte, bestätigt sich bei *Datura stramonium* in vollem Umfange auch auf der Ebene der Feinstrukturen. Auch hier läßt sich die Crown-Gall-Zelle somit nicht von den übrigen Hyperplasien unterscheiden. Ähnliches gilt auch für die tierische Krebszelle (Dalton and Felix 1956, Bernhard 1958). Wir behandeln deshalb im folgenden die Hyperplasien gemeinsam und gehen erst später auf das spezielle physiologische Verhalten der Tumorzellen ein. Unsere Ausführungen beschränken sich zudem auf jüngere Tumorstadien; in älteren macht sich ein zunehmender Verlust an differenzierten Strukturen bemerkbar.

Das Mehr an Strukturen, das die Hyperplasien gegenüber den Normalgeweben aufweisen, betrifft hauptsächlich die Plastiden, während der größte Teil der übrigen Organellen nur unwesentlich verändert ist.

Es sind nun vor allem die Einschlußkörper-Plastiden, durch die sich Hyperplasien von den Normalgeweben unterscheiden. Ganz auf die hyperplastischen Gewebe beschränkt sind sie jedoch nicht, da auch Zellen des Vegetationspunktes Einschlußkörper-Plastiden enthalten (Hohl 1960). Nun sind nach einer verbreiteten Ansicht (Buvat 1944—1945) die Zellen im Innern des Vegetationskegels noch nicht determiniert und besitzen also — ähnlich wie die Hyperplasien — keine starken korrelativen Bindungen zum übrigen Gewebe. Damit wird die Ausnahme der aufgestellten Regel zu einem Indiz dafür, daß der Einschlußkörper-Plastid Kennzeichen schwach korrelierter Zellen ist.

Nach Buvat (1944—1945) stellt die in Wund- und Tumorgeweben auftretende Dedifferenzierung der Zellen eine genaue Umkehr der normalen Differenzierung dar. Die Zellen verwandeln sich durch rasche Teilung aus ihrer differenzierten Endform zu Kambium- und schließlich zu primären Meristemzellen zurück. Bei der Besprechung dieser Dedifferenzierung behandeln wir, wie bei der Besprechung der Normalgewebe, das Verhalten der Zellorganellen und der Zellen gesondert.

Zellorganellen. Drei Merkmale kennzeichnen die Plastidenmetamorphose, die mit der hyperplastischen Zellreaktion einsetzt: 1. Bereits nach 24 h treten Einschlußkörper in Proplastiden und Jungchloroplasten auf. 2. Zur gleichen Zeit lassen sich in Kambiumzellen Initialkörperchen nachweisen, die hier sonst fehlen. 3. Nach 4 bis 8 Tagen findet man an Stelle von Chloroplasten enthaltenden Parenchymzellen solche, die nur noch Proplastiden und Jungchloroplasten führen.

Es stellt sich nun die Frage, woher die Proplastiden und Jungchloroplasten stammen, und was mit den ausdifferenzierten Chloroplasten geschehen ist. Nach der Theorie von SCHIMPER (1885) können die Plastiden nur aus ihresgleichen entstehen, und ihre Differenzierung zu Chloroplasten und Chromoplasten ist reversibel. BUVAT (1944—1945) stellte tatsächlich lichtmikroskopisch fest, daß sich Plastiden in hyperplastischen Geweben nach der Resorption ihrer paraplasmatischen Inhaltskörper (Stärke, Pigmente) teilen und auf das Stadium der „chondriosomes" zurückkehren.

Der Theorie von SCHIMPER steht die Ansicht von FREY-WYSSLING et al. (1956) gegenüber, wonach die Plastidenentwicklung monotrop verläuft. Diese Theorie stützt sich vor allem auf die Beobachtungen, daß erstens Chromoplasten oft degenerativen Charakter tragen (vgl. FREY-WYSSLING und KREUTZER 1958 a, b, LANCE-NOUGARÈDE 1960) und nicht mehr ergrünen können, zweitens Chloroplasten bei Etiolement und Chlorose wohl vergilben und sich verkleinern, nicht aber zu funktionstüchtigen, wieder entwicklungsfähigen Proplastiden werden, und drittens der komplizierte Bau des Chloroplasten eine Umkehr zum einfachen Proplastiden unwahrscheinlich macht.

Wenn in Tochterzellen von nur Chloroplasten enthaltenden Zellen wieder Proplastiden zu finden sind, so müssen sie nach dieser Theorie aus primitiveren Vorstufen neu gebildet worden sein (vgl. MÜHLETHALER und FREY-WYSSLING 1959). Die bei *Datura* in verstärktem Maße auftretenden Initialkörperchen tragen zur Erhärtung dieser Ansicht bei. Nicht erklärt ist aber damit das Schicksal der ausdifferenzierten Chloro-

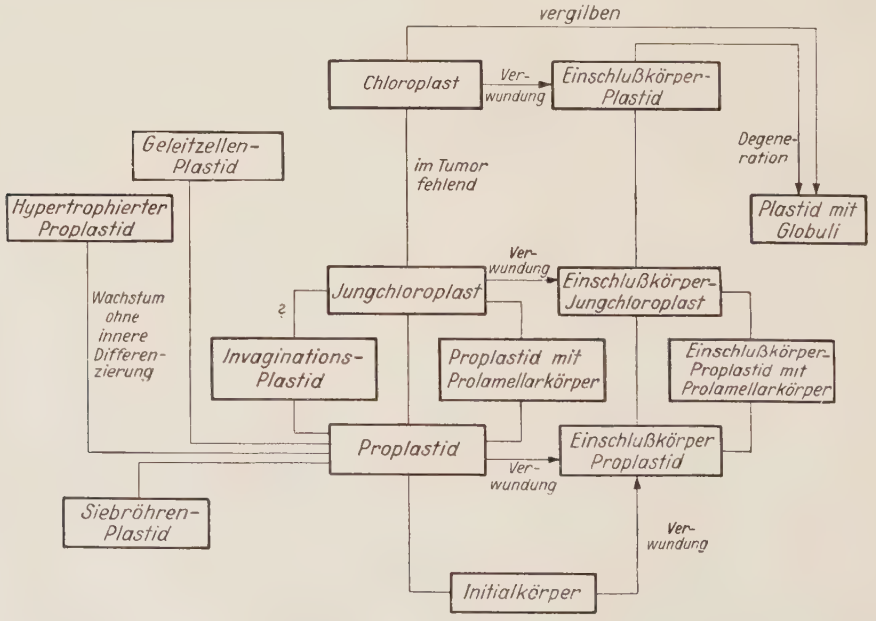

Abb. 18. Schema der Plastidenmetamorphose in hyperplastischen Geweben von *Datura stramonium*. Erklärung im Text

plasten, die im Wundgewebe schon nach 4 bis 8 Tagen nicht mehr nachweisbar sind. Dies könnte lediglich durch eine Verdünnung der Chloroplasten im Verlaufe der häufigen Zellteilungen bedingt sein. Die Möglichkeit einer Neuteilung und einer damit verbundenen teilweisen Dedifferenzierung läßt sich jedoch nicht völlig ausschließen.

Die neu entstandenen Proplastiden können sich nun, wie in Normalgeweben, zu den verschiedenen Plastidentypen redifferenzieren. Die dabei beobachteten Formen sind in einem Schema (Abb. 18) zusammengestellt.

Beim Vergleich dieser Darstellung mit dem Schema der Normalentwicklung (Hohl 1960) fällt auf, daß viele Plastidentypen beiden gemeinsam sind: In Hyperplasien und Normalgeweben scheinen sich gleiche Vorgänge abzuspielen. Den Hyperplasien sind aber zusätzlich eine Entwicklungsreihe von Plastiden mit Einschlußkörpern sowie einige weitere neue Plastidentypen eigen, während stärkespeichernde Proplastiden fehlen.

Aus der Literatur lassen sich nur wenige Beispiele pathologischer Plastidenformen zum Vergleich heranziehen. Die großen osmiophilen Tropfen in den Plastiden der Gewebekulturen haben in den Plastiden der Mutante *viridis* von *Lycopersicum esculentum* Mill. (Lefort 1959) und in chlorotischen Plastiden (Strunk und Wartenberg 1960) ihr Gegenstück. Alle drei dürften degenerative Formen darstellen.

Proplastiden, die sich nicht weiterentwickeln (vgl. auch Vogel 1960 b) oder ohne innere Differenzierung weiterwachsen, und Plastidentypen, die in der gesunden Pflanze auf Epidermis- oder Geleitzellen beschränkt sind (Hohl 1960), ersetzen bei einigen Mutanten die Normalplastiden (Wettstein 1957, 1958, Lefort 1959) und führen zu tiefgreifenden Assimilationsstörungen.

Über Degenerationserscheinungen an Plastiden virusinfizierter Pflanzen berichten Hirai und Matsui (1956), Gerola (1959) und Wehrmeyer (1959 b). Letzterer deutet sie als Artefakt, bedingt durch eine gesteigerte Labilität gegenüber dem Fixiermittel. Bei *Datura* haben wir zerstörte Plastiden nur in Zellen gefunden, die schlecht fixiert oder bei der Verwundung stark geschädigt worden waren.

Zellen. In Übereinstimmung mit den Befunden von Buvat (1944 bis 1945) setzt auch in den Geweben von *Datura* nach der Verletzung eine Dedifferenzierung ein, bei der kambiale Zellen entstehen. Diese sind aber wegen ihres Gehalts an Einschlußkörper-Plastiden morphologisch mit dem Kambium des Normalstengels nicht identisch.

Von diesem „hyperplastischen" Kambium führen nun zwei Wege weiter: Einerseits erfolgt eine erneute Differenzierung, anderseits wird die Dedifferenzierung bis zur primären Meristemzelle weitergeführt.

Bei der erneuten Differenzierung bilden sich im Prinzip die Zelltypen des Stengels wieder aus: Parenchymzellen, Siebzellen (eventuell mit Geleitzellen) und Tracheiden. Gestört ist aber ihre äußere Form (z. B. als Röhrenglied) und ihre gegenseitige Anordnung (z. B. zu Röhren). Mit anderen Worten, während die Zelldifferenzierung in den

Hyperplasien weitgehend normal verläuft, wird die Gewebe differenzierung stark in Mitleidenschaft gezogen.

Die weitere Dedifferenzierung kambialer Zellen erfolgt unter beschleunigter Teilung in den meristematischen Teilungszentren, wo sie zu primären Meristemzellen führen kann. Diese enthalten nur noch selten Einschlußkörper-Plastiden. Sie gleichen morphologisch völlig normalen primären Meristemzellen.

Daß es sich dabei um eine echte Dedifferenzierung (true dedifferentiation oder dedetermination, vgl. WADDINGTON 1956, HUXLEY 1958) zu omnipotenten Meristemzellen handelt, läßt sich an Gewebekulturen zeigen, in denen sie zu Wurzeln oder Sprossen auswachsen können (BUVAT 1944—1945, SKOOG 1944, STERLING 1951, BALL 1950, SKOOG and MILLER 1957, GAUTHERET 1959). Die Art der Bildungen wird dabei durch den Wuchsstoffspiegel gesteuert (STICHEL 1959): Bei niedrigem Spiegel bilden sich Sprosse und Wurzeln, bei mittlerem nur noch Wurzeln und bei hohem werden beide unterdrückt. Ein Kallus läßt sich zu vermehrter Wurzel- und Sproßbildung anregen, indem man ihn auf ein wuchsstofffreies Medium überträgt (DE ROPP 1947 b, LEVINE 1950, 1951, REINERT 1959). Beim Crown-Gall versagt diese Methode, da sein Wuchsstoffspiegel endogen reguliert wird. Aber auch hier ist die Omnipotenz der meristematischen Teilungszentren durch selten zu beobachtende Wurzelbildungen (BROWN 1929, DÉMÉTRIADES 1953, 1954) und durch die Sproßbildungen der Teratome (SMITH 1916, 1917 b, BRAUN 1954 a) erwiesen.

Zur Beobachtung, daß in den meristematischen Teilungszentren nur noch selten Einschlußkörper-Plastiden auftreten, ist folgendes zu bemerken: Die Plastiden sind weitgehend selbständige Zellorganellen (SCHOETZ 1954, 1958, FASSE-FRANZISKET 1955, RICHTER 1958), die mehr unter dem Einfluß von äußeren (FASSE-FRANZISKET 1955, WILD 1958) als von inneren Faktoren — Kern (YAMASAKI 1954, RICHTER 1958, BUTTERFASS 1959) und andere Zellpartikeln (STEFFEN und LANDMANN 1958) — stehen. Dieser mehr oder weniger unabhängigen Stellung gemäß werden sie als semi-autonome oder autonome Partikeln bezeichnet (RENNER 1936, GOLDSCHMIDT 1955, MICHAELIS 1958 a, b, SCHOETZ 1958).

Es besteht eine ausgedehnte Literatur über die Eliminierung semiautonomer oder autonomer Partikeln aus der Zelle (zusammengestellt bei GOLDSCHMIDT 1955, DARLINGTON 1958, HUXLEY 1958). Es ist z. B. bekannt, daß die Giftwirkung bestimmter Paramaecien an die sog. Kappa-Partikeln des Zytoplasmas gebunden ist (SONNEBORN 1959). Werden diese Paramaecien zu schneller, fortgesetzter Teilung angeregt, so verdünnen sich die Kappa-Partikeln, da ihre Teilungsrate mit derjenigen der Paramaecien nicht Schritt hält. Auf diese Weise können die Pantoffeltierchen von den Partikeln befreit werden.

Die CO_2-Empfindlichkeit gewisser *Drosophila*-Stämme ist ebenfalls mit der Anwesenheit virusartiger Plasmapartikeln (L'HÉRITIER 1958)

verbunden. Durch Wärmebehandlung (Zerstörung und Verdünnung der Partikeln) können die Insekten geheilt werden.

Ferner können Hefezellen spontan oder durch Acridin-Behandlung bestimmte, mit respiratorischen Funktionen betraute Plasmapartikeln (Mitochondrien?) verlieren und dadurch eine starke Entwicklungshemmung erfahren (Ephrussi 1953).

Hält man Kulturen von *Euglena gracilis* im Dunkeln, so wird die Vermehrung der Plastiden, nicht aber der Zellen, gehemmt, und es entstehen plastidenfreie Stämme (Pringsheim and Pringsheim 1952, Darlington 1958).

Kehren wir zurück zu unseren Zellen mit ihrem Nebeneinander von normalen und Einschlußkörper-Plastiden. Untersuchungen solcher sog. heteroplastidischer Zellen liegen von Michaelis (1958 a, b), Schoetz (1954, 1958) und andern vor. Dabei hat sich gezeigt, daß diese Zellen zur Entmischung ihrer Plastiden neigen, d. h. nach genügend Teilungen nur noch den einen oder andern Plastidentyp enthalten. Die Geschwindigkeit der Entmischung ist u. a. abhängig von der Zahl der Partikeln je Zelle und der Differenz ihrer Teilungsraten: Je geringer die Partikelzahl und je größer die Differenz ihrer Teilungsraten ist, desto rascher erfolgt die Entmischung. Im Gegensatz dazu beruht die „Verdünung" auf der Differenz der Teilungsraten von Zelle und Partikel.

Der starke Rückgang der Einschlußkörper-Plastiden in den meristematischen Zentren von *Datura*-Hyperplasien dürfte eher mit Verdünnungs- als mit Entmischungsvorgängen im Zusammenhang stehen. Dies darum, weil sich die Zellen in den meristematischen Zentren sehr rasch teilen und die Plastiden weitgehend selbständige Zellpartikeln sind.

II. Pathologische Probleme

Im Zusammenhang mit der Entstehung des Crown-Gall werden vor allem zwei Theorien diskutiert, die Virustheorie (vgl. Übersicht bei Gautheret 1959) und die Zytoplasmapartikel-Theorie (Braun and Stonier 1958).

1. Virustheorie

Die Virustheorie des Crown-Gall basiert bei nur spärlich vorhandenen positiven Argumenten (de Roop 1947 a, Camus et Gautheret 1948 a, Camus, Wildman and Bonner 1951) auf Analogieschlüssen zum Wundtumor (Black 1949, 1952, 1958) und zur Virustheorie des tierischen Krebses (Oberling 1959); dann auch darauf, daß keine eindeutigen Beweise gegen eine Mitwirkung von Viren geltend gemacht werden können (Braun and White 1943).

Der von Beardsley (1955, 1960) in virulenten und avirulenten Bakterien nachgewiesene Phag ist ohne Beziehung zum Crown-Gall. Phagenfreie Bakterien bleiben virulent (Braun and Stonier 1958), und der Phag

allein löst keinen Tumor aus (KLEIN and BEARDSLEY 1957). Auch sind unseres Wissens noch keine phytopathogene Viren bekannt, die von Bakterien auf Pflanzen übertragen werden.

Wir konnten nie phagen- oder virusartige Partikeln in oder an Bakterien beobachten. Allerdings umfaßt das Beobachtungsmaterial nur einige hundert Bakterienschnitte; nach BEARDSLEY (1960) beträgt aber die Wahrscheinlichkeit einer spontanen Lyse z. B. des Ω-Phagen 10^{-3} per *Agrobacterium* und Generation. — Hier steht noch ein weites Feld für zukünftige Untersuchungen offen, wobei vor allem Versuche zur Aktivierung möglicherweise vorhandener Proviren notwendig sind.

Auch in den Tumorzellen von *Datura* selbst ließen sich bis jetzt nie Viren nachweisen. Versuche von BRAKKE et al. (1954), in Homogenisaten von Crown-Gall auf *Melilotus* elektronenmikroskopisch Viren nachzuweisen, verliefen ebenfalls negativ. Dagegen fanden wir in Plastiden drei Monate alter Tumore von *Kalanchoë* Aggregate virusähnlicher Partikeln. Die einzelnen Partikeln messen etwa 700 × 18 mμ und zeigen damit keinerlei morphologische Beziehung zu den 80 mμ großen, sphärischen Wundtumorviren (BRAKKE et al. 1954). Unsere Aggregate lassen sich nur in begrenzten Bezirken des Tumors nachweisen; in den Wund- und Normalgeweben scheinen sie ganz zu fehlen. — Da die Ergebnisse noch vorläufigen Charakter tragen (Versuche noch nicht wiederholt), verzichten wir auf eine Diskussion über die mögliche Herkunft, Natur und Bedeutung dieser Partikeln.

2. Braunsche Zytoplasmapartikeltheorie

Auf die Frage nach dem morphologisch erfaßbaren Beitrag der Verwundung zur Tumorgenese zurückkommend, stellen wir fest, daß während der Konditionierungsphase Einschlußkörper-Plastiden gebildet werden, die in der gleichen Zelle neben normalen Plastiden auftreten. Diese Eigenschaft der konditionierten Zelle ist somit nicht an die Zelle als Ganzes, sondern an einen Teil ihrer Plastiden gebunden. Die Frage nach einer möglichen Bedeutung plastidengebundener Konditionierungsfaktoren für die Tumorzelle ist eng mit einer anderen verknüpft: Wie verhalten sich Zelleigenschaften, die an zytoplasmatische Partikeln gebunden sind, bei der Zellteilung?

Wir haben diese Frage bereits im letzten Abschnitt diskutiert und sind zum Schluß gekommen, daß solche Eigenschaften durch „Verdünnung" oder „Entmischung" aus den Zellen eliminiert werden können.

Nach der Theorie von BRAUN (1954 a; vgl. auch BRAUN and STONIER 1958) bilden sich bei der Verwundung, frühestens 24 h nach dem Einstich zytoplasmatische Partikeln unbekannter Natur, die in den ersten Tagen nach der Verwundung zunehmen und sich anschließend wieder vermindern. Unter der Wirkung der Bakterien unterbleibt die rückläufige Entwicklung, da sich die Plastiden mit dem tumorinduzierenden Prinzip verbunden haben und zu autonomen Entitäten geworden sind. Diese Theorie stützt sich u. a. darauf, daß Zellen von Teratomen wieder geheilt werden können (BRAUN 1953, 1959). Die Teratome bilden an ihrer Ober-

fläche sproßähnliche Auswüchse. Pfropft man ein solches Sproßstück auf das apikale Meristem einer normalen Pflanze, so wird es zu erhöhter Teilung angeregt. Es bildet sich wiederum ein Teratom mit Sprossen, die abgeschnitten und erneut transplantiert werden. Wiederholt man diese Transplantationen einige Male, so nehmen die Sprosse ein zusehends normaleres Aussehen an und wachsen schließlich zu völlig gesunden Pflanzen aus. Nach der Theorie werden durch die andauernd rasche Zellteilung die autonomen Zellpartikeln verdünnt und schließlich eliminiert, was zur Gesundung der Zellen führt.

Unsere Einschlußkörper-Plastiden haben viele Eigenschaften mit den hypothetischen Partikeln von BRAUN gemein: erste Bildung nach 24 h, Zunahme in den ersten Tagen, Erhaltung im Tumor, Bildung auch bei erhöhter Temperatur, relativ kleine Zahl je Zelle etc.

Nicht in die BRAUNsche Theorie paßt die Tatsache, daß die Einschlußkörper-Plastiden bei der Wundheilung nicht rasch verschwinden und selbst nach 20 Tagen noch nachweisbar sind. Für das Erlöschen der Konditionierung nach 4 bis 5 Tagen müssen deshalb noch andere Faktoren als die vermutete Partikelabnahme postuliert werden. In Frage kommt die Bildung eines Abschlußgewebes oder die Aktivierung von Abwehrreaktionen. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß auch gewisse Orchideenknollen auf einen Reiz hin erst nach 8 Tagen ein Maximum an Abwehrstoffen gebildet haben (GÄUMANN und HOHL 1960).

Besteht die Identität von Einschlußkörper-Plastiden und BRAUNschen Zytoplasmapartikeln zu Recht, so findet damit nicht nur die Theorie ihre morphologische Bestätigung, sondern es werden darüber hinaus viele ihrer Einzelheiten besser verständlich. Dies betrifft z. B. den gegen die Theorie erhobenen Einwand, daß sie sich wohl an Teratomen, nicht aber an vollalterierten Tumoren bestätigen lasse.

Wir haben gesehen, daß die Verdünnung der Einschlußkörper-Plastiden in den meristematischen Teilungszentren erfolgt. Ferner wurde dargelegt (S. 344), daß die sich aus Hyperplasien entwickelnden Sprosse und Wurzeln von den meristematischen Teilungszentren ausgehen. Wenn somit BRAUN mehrere Male die auf den Teratomen sich bildenden Sprosse transplantiert, so selektioniert er Gewebepartien, die arm an Einschlußkörper-Plastiden sind. — In den schnellwachsenden Tumoren dagegen unterbleibt infolge des hohen Wuchsstoffspiegels das Auswachsen der meristematischen Teilungszentren zu Sprossen, die auf gesunde Pflanzen gepfropft werden könnten. Die Selektion — und damit eine Heilung — fällt dahin.

Nach der Theorie von BRAUN wirkt das tumorinduzierende Prinzip spezifisch auf die zytoplasmatischen Partikeln und macht sie zu Trägern der Autonomie der Tumorzelle. Für die mögliche Transformation der Einschlußkörper-Plastiden durch das tumorinduzierende Prinzip konnten wir bei *Datura* keine morphologischen Anhaltspunkte finden, denn die Einschlußkörper von Wunde und Tumor unterscheiden sich nicht. Ob die virusähnlichen Partikeln der *Kalanchoë*-Tumorplastiden spezifische Tumorstrukturen sind, läßt sich noch nicht entscheiden.

Wir müssen deshalb die weitere Möglichkeit in Betracht ziehen, daß das tumorinduzierende Prinzip nicht direkt auf die Einschlußkörper-Plastiden wirkt, sondern am Kern irgendwelche permanenten Änderungen hervorruft. Die Einschlußkörper-Plastiden würden in diesem Falle selber nicht verwandelt, sondern dienten als spezifischer Wirkungsort („Spezifisches Substrat", GOLDSCHMIDT 1955) der im Kern verankerten Autonomie; d. h. die im Kern erfolgte Änderung brauchte, um manifest zu werden, die Einschlußkörper-Plastiden als „Erfolgsorgan" oder „Instrument". Sollte diese Möglichkeit verwirklicht sein, so würde durch die Eliminierung der Einschlußkörper-Plastiden die Zelle nicht wirklich geheilt, sondern lediglich die im Kern sitzende Autonomie ihres Wirkungsortes beraubt. Mit anderen Worten, die Fähigkeit zur Tumorbildung wäre noch immer latent vorhanden, und bei erneuter Verwundung müßte sich ohne Zutun des Bakteriums ein neuer Tumor bilden. Tatsächlich ist eine solche „latente Krebsbereitschaft" bei den genetischen Tumoren verwirklicht (KEHR and SMITH 1954, BRAUN and STONIER 1958): Die Verwundung allein führt hier zur Auslösung eines Tumors. Auch beim Crown-Gall sind einige Fälle bekannt, wo scheinbar normale, aus dem Tumor treibende Wurzeln (DE ROPP 1947 c, DÉMÉTRIADES 1953, NICKELL 1955) spontan wieder Tumoren ausbildeten (vgl. GAUTHERET 1959). Doch liegen über diese Phänomene noch keine systematischen Untersuchungen vor.

Abschließend möchten wir nochmals betonen, daß die Frage, wieweit die Einschlußkörper-Plastiden „Träger der Autonomie" oder „spezifischer Wirkungsort des Kerns" sind, noch offen gelassen werden muß.

Zusammenfassung

1. *Agrobacterium tumefaciens* (SMITH and TOWNSEND) Conn. sowie die folgenden Hyperplasien von *Datura stramonium* L. wurden elektronenmikroskopisch untersucht: Primärtumor, Sekundärtumor, Wundkallus und Gewebekultur. Die Überprüfung einzelner Ergebnisse erfolgte an: *Bryophyllum daigremontiana* Hort., *Helianthus annuus* L., *Kalanchoë Blossfeldiana* von POELLNITZ, *Nicotiana tabacum* L., *Solanum Lycopersicum* L., *Vinca rosea* L., *Allium ursinum* L., *Arum italicum* Mill. und *Paris quadrifolia* L.

2. Das Bakterium besitzt eine Zell- und eine Plasmamembran, die ein körniges Plasma umschließen. Das Zentrum der Zelle wird von einem fibrillären Nukleoiden eingenommen. Phagen- oder virusartige Partikeln ließen sich nicht nachweisen.

3. Die Hyperplasien sind im wesentlichen alle gleich gebaut, das Tumorgewebe besitzt keine spezifischen Feinstrukturen. Mit wenig Ausnahmen — Chloroplasten fehlen im Tumor —

enthalten die Hyperplasien alle Zellorganellen der Normalgewebe in unveränderter Form. Neben den normalen Plastidentypen treten weitere auf: hyperplastische Proplastiden, Invaginations- und Einschlußkörper-Plastiden sowie degenerative Formen.

4. Einschlußkörper-Plastiden werden als Antwort auf den Wundreiz gebildet. Sie liegen in der gleichen Zelle neben normalen Plastiden. Da sie sich normal teilen und alle Stadien der Entwicklung normaler Plastiden durchlaufen, scheinen sie eine eigene Entwicklungsreihe zu verkörpern. Die ersten Einschlußkörper-Plastiden finden sich etwa 24 Stunden nach der Verwundung; anschließend nimmt ihre Zahl in den ersten Tagen stark zu. Im Tumor können sie nach mehreren Monaten noch nachgewiesen werden. In den Gewebekulturen treten sie ebenfalls, wenn auch in geringerer Zahl, auf. Sie werden bei Zimmertemperatur und bei 35 °C gebildet. — Neben *Datura* enthalten Tabak, Tomate und Sonnenblume in Wunde und Tumor Einschlußkörper-Plastiden.

5. Ein atypisches Phloem bildet sich im Primärtumor und in der Gewebekultur. Die Siebzellen besitzen zwar die gleiche innere Feinstruktur wie die normalen, ihre äußere Form ist aber mehr oder weniger isodiametrisch. Ähnliches gilt für die Geleitzellen.

6. Aggregate virusähnlicher Partikeln ließen sich in den Plastiden drei Monate alter Tumoren von *Kalanchoë* feststellen. Nach den bisherigen Ergebnissen fehlen sie im Normal- und Wundgewebe. Ihre Herkunft und Bedeutung sind noch ungeklärt.

7. Die Besprechung der Ergebnisse erfolgt in zwei Teilen, im ersten werden die morphologische Differenzierung und Dedifferenzierung, im zweiten das Problem der Tumortransformation und die Braunsche Zytoplasmapartikel-Theorie diskutiert.

Summary

1. With the aid of the electron microscope, we have investigated the cells of *Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend) Conn. and various types of hyperplasias on *Datura stramonium* L. (primary tumor, secondary tumor, wound callus and tissue culture). For comparison, in one experiment the following host plants have been included: *Bryophyllum daigremontiana* Hort., *Helianthus annuus* L., *Kalanchoë Blossfeldiana* von Poellnitz, *Nicotiana tabacum* L., *Solanum Lycopersicum* L., *Vinca rosea* L., *Allium ursinum* L., *Arum italicum* Mill. and *Paris quadrifolia* L.

2. In the bacterium a granular cytoplasm is surrounded by a cell wall and a cytoplasmic membrane. A fibrillous nucleoid lies in the center. Phage- or viruslike particles could not be discovered.

3. All hyperplasias including tumor tissues have essentially the same ultrastructure. With few exceptions — chloroplasts are lacking

in tumors — the same cell organells occur in normal and hyperplastic tissues. However, in addition to normal plastid forms, hyperplastic tissues contain some new types: hypertrophic proplastids, plastids with invaginations, plastids with inclusion-bodies and degenerated forms.

4. Plastids with inclusion-bodies are formed during the reaction following the wounding. They appear after about 24 hours; their number increases during the first few days. In tumor tissues they can even be demonstrated after several months. They appear also in tissue cultures, though less numerous than in tumor tissues. They are formed even at a temperature of 35 °C. Plastids with inclusion-bodies occur in the same cells together with normal plastids. As they divide normally and show all developmental stages of normal plastids, they seem to represent an independent line of plastid development. — Tobacco, tomato and sunflower form plastids with inclusion-bodies in wound and tumor tissues similar to those of *Datura*.

5. An atypical phloem is formed in primary tumors and tissue cultures. The sieve cells and the companion cells show the normal ultrastructure, but their shape is more or less isodiametric.

6. Aggregates of viruslike particles could be observed in plastids of old *Kalanchoë* tumors but neither of normal nor wound tissues. Origin and significance of these particles are unknown.

7. The results are discussed with reference to morphological differentiation and dedifferentiation, and in relation to tumor-transformation and the theory of A. C. BRAUN.

Résumé

L'étude au microscope éléctronique de tumeurs induites par *Agrobacterium tumefaciens* (SMITH and TOWNSEND) Conn. sur diverses plantes nous a donné les résultats suivants:

1. La cytologie de la bactérie dans la plante ne présente pas de caractères originaux. Elle ressemble à celle d'autres espèces bactériennes (paroi, membrane, nucleoïde fibrillaire).

2. Par contre on trouve dans les tissus de la plante-hôte un aspect particulier de certains plastes. Ils contiennent des inclusions de nature encore inconnue. Ces plastes sont présents aussi bien dans les tissus traumatisés de la plante saine que dans ceux de la plante inoculée. Ils persistent dans les tumeurs âgées en même temps que les plastes normaux et ceci au sein d'une même cellule.

On est en droit de supposer qu'ils sont un des aspects du »conditionnement« tel qu'il a été déjà défini par A. C. BRAUN.

Literaturverzeichnis

Albertini, A. v., H. R. Hohl, P. Manigault, Ch. Stoll et A. Vogel, 1961: Similitudes et différences entre des tumeurs expérimentales et le crown-gall. Phytopath. Z., im Druck.

Baba, S., 1958: Histochemical studies of wound periderm formation IV. Changes in activity of phenol oxidases. Mem. Coll. Sc., Univ. Kyoto, Ser. B **25**, 63—68.

Ball, E., 1950: Differentiation in a callus of *Sequoia sempervirens*. Growth **14**, 295—325.

Banfield, W., 1935: Studies in cellular pathology. I. Effects of cane gall bacteria upon gall tissue cells of the black raspberry. Bot. Gaz. **97**, 193—239.

Beardsley, R. E., 1955: Phage production by Crown-Gall bacteria and the formation of plant tumors. Amer. Naturalist **89**, 175—176.

— —, 1960: Lysogenicity in *Agrobacterium tumefaciens*. J. Bact. **80**, 180—187.

Bender, E., und W. Brucker, 1959: Weitere Versuche zur zellfreien Tumorerzeugung an Pflanzen. III. Z. Bot. **47**, 258—271.

Bernhard, W., 1958: Electron microscopy of tumor cells and tumor viruses. Cancer Res. **18**, 491—509.

Bieber, J., und H. Wartenberg, 1957: Untersuchungen der Sekundärtumoren beim bakteriellen Pflanzenkrebs an *Helianthus annuus*. Ber. Dt. Bot. Ges. **70**, 205—216.

Black, L. M., 1949: Virus tumors. Surv. Biol. Progress **1**, 155—231.

— —, 1952: Plant virus tumors. Ann. Acad. Sc., N. Y., **54**, 1067—1075.

— —, 1958: Wound tumors. Proc. Nat. Acad. Sc. **44**, 364—367.

— —, and C. Lee, 1957: Interaction of growth-regulating chemicals and tumefacient virus on plant cells. Virology **3**, 146—159.

Blass, J., et P. Manigault, 1950: Etudes biochimiques des tumeurs de Crown-Gall chez *Pelargonium zonale*. I. Etude des glucides. Ann. Inst. Pasteur **79**, 60—71.

Bloch, R., 1941: Wound healing in higher plants. Bot. Rev. **7**, 110—146.

— —, 1952: Wound healing in higher plants II. Bot. Rev. **18**, 655—679.

— —, 1954: Abnormal plant growth. Brookhaven Symp. in Biol. **6**, 41—54.

Brakke, M. K., and L. G. Nickell, 1955: Secretion of an enzyme from intact cells of a higher plant tumor. Ann. Biol. **31**, 215—224.

— —, A. E. Vatter and L. M. Black, 1954: Size and shape of wound-tumor virus. Brookhaven Symp. in Biol. **6**, 137—156.

Brandes, J., and C. Wetter, 1959: Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. Virology **8**, 99—115.

Braun, A. C., 1941: Development of secondary tumors and tumor strands in the Crown-Gall of sunflowers. Phytopathology **31**, 135—149.

— —, 1947: Thermal studies on the factors responsible for tumor initiation in Crown-Gall. Am. J. Bot. **34**, 234—240.

— —, 1948: Studies on the origin and development of plant teratomas incited by the Crown-Gall bacterium. Amer. J. Bot. **35**, 511—519.

— —, 1951: Recovery of tumor cells from effects of the tumor-inducing principle in Crown-Gall. Science **113**, 651—653.

— —, 1952: Conditioning of the host cell as a factor in the transformation process in Crown-Gall. Growth **16**, 65—74.

— —, 1953: Organization of Crown-Gall tumor cells in the presence of a formative stimulus. Phytopathology **43**, 204—205.

— —, 1954 a: Studies on the origin of the Crown-Gall tumor cell. Brookhaven Symp. in Biol. **6**, 115—127.

— —, 1954 b: The physiology of plant tumors. Ann. Rev. Plant Physiol. **5**, 133—162.

— —, 1959: Demonstration of the recovery of the Crown-Gall tumor cell with the use of complex tumors of single-cell origin. Proc. Nat. Acad. Sc. **45**, 932—938.

— —, and R. J. Mandle, 1948: Studies on the inactivation of the tumor-inducing principle in Crown-Gall. Growth **12**, 255—269.

— —, and G. Morel, 1950: A comparision of normal, habituated and Crown-Gall tumor tissue implants in the European grape. Amer. J. Bot. **37**, 499—501.

BRAUN, A. C., and T. STONIER, 1958: Morphology and physiology of plant tumors. Protoplasmatologia **10**, 1—93.

— —, and PH. R. WHITE, 1943: Bacteriological sterility of tumors derived from secondary Crown-Gall tumors. Phytopathology **33**, 85—100.

BRENNER, S., and R. W. HORNE, 1959: A negative staining method for high resolution electron microscopy of viruses. Biochim. Biophys. Acta **34**, 103—110.

BROWN, N. A., 1929: The tendency of the Crown-Gall organism to produce roots in conjunction with tumors. J. Agr. Res. **39**, 747—766.

BUTTERFASS, T., 1959: Ploidie und Chloroplastenzahlen. Ber. Dt. Bot. Ges. **72**, 440—451.

BUVAT, R., 1944—45: Recherches sur la dédifférenciation des cellules végétales. Ann. Sc. Nat. Bot. Biol. Vég. **5**, 1—130 und **6**, 1—119.

CAMUS, G. C., et R. J. GAUTHERET, 1948 a: Sur la transmission par greffage des propriétés tumorales des tissus de Crown-Gall. C. r. Soc. biol. **142**, 15—16.

— —, et — —, 1948 b: Sur le caractère tumoral des tissus de Scorsonère ayant subi le phénomène d'accoutumance aux hétéro-auxines. C. r. Acad. Sc. **226**, 744—745.

— —, S. G. WILDMAN and J. BONNER, 1951: Comparative study of the soluble proteins of Crown-Gall and normal tissues of sunflower cultivated in vitro. Amer. Inst. Biol. Sc. **34**, zit. in BRAUN and STONIER 1958.

CHESTER, K. S., 1933: Studies on bacteriophage in relation to phytopathogenic bacteria. Zbl. Bakt., Parasitenk. und Infektionskr. **89**, 1—30.

DALTON, A. J., and M. D. FELIX, 1956: The electron microscopy of normal and malignant cells. Ann. Acad. Sc., N. Y., **63**, 1117—1140.

DARLINGTON, C. D., 1958: Evolution of genetic systems. Oliver and Boyd, Edinburgh and London, 2. Auflage, 265 S.

DÉMÉTRIADÈS, S. D., 1953: Sur un cas de différenciation des tissues de Crown-Gall de Scorsonère cultivés in vitro. C. r. Soc. Biol. **147**, 1713—1714.

— —, 1954: Sur le phénomène de différenciation des tissus végétaux tumoraux cultivés in vitro. Ann. Inst. Phytopath. Benaki **8**, 88—95.

D'HÉRELLE, F., et E. PEYRE, 1927: Contribution à l'étude des tumeurs expérimentales. C. r. Acad. Sc. **185**, 227—230.

DE ROPP, R. S., 1947 a: The growth-promoting and tumefaciens factors of bacteriafree Crown-Gall tumor tissue. Amer. J. Bot. **34**, 248—261.

— —, 1947 b: The Response of normal plant tissues and of Crown-Gall tumor tissues to synthetic growth hormones. Amer. J. Bot. **34**, 53—62.

— —, 1947 c: The isolation and behaviour of bacteriafree Crown-Gall tissue from primary galls of *Helianthus annuus*. Phytopathology **37**, 201—206.

— —, 1948 a: The interaction of normal and Crown-Gall tumor tissue in in vitro grafts. Amer. J. Bot. **35**, 372—377.

— —, 1948 b: The movement of Crown-Gall bacteria in isolated stem fragments of sunflower. Phytopathology **38**, 993—998.

— —, 1951: The Crown-Gall problem. Bot. Rev. **17**, 629—670.

ENGLISH, J., J. BONNER and A. J. HAAGEN-SMIT, 1939: The wound hormones of plants. IV. Structure and synthesis of a traumatin. J. Amer. Chem. Soc. **61**, 3434—3438.

EPHRUSSI, B., 1953: Nucleo-cytoplasmic relations in microorganisms. Clarendon Press, Oxford, 127 S.

ESCHRICH, W., 1953: Beiträge zur Kenntnis der Wundsiebröhrenentwicklung bei *Impatiens Holsti*. Planta **43**, 37—74.

FASSE-FRANZISKET, U., 1955: Die Teilung der Proplastiden und Chloroplasten bei *Agapanthus umbellatus* l'Hérit. Protoplasma **45**, 194—227.

FOGELBERG, S., B. STRUCKMEYER and R. ROBERTS, 1957: Morphological variations of mitochondria in the presence of plant tumors. Amer. J. Bot. **44**, 454—459.

FREY-WYSSLING, A., and E. KREUTZER, 1958 a: The submicroscopic development of chromoplasts in the fruit of *Capsicum annuum* L. J. Ultrastr. Res. **1**, 397—411.

— —, und — —, 1958 b: Die submikroskopische Entwicklung der Chromoplasten von *Ranunculus repens* L. Planta **51**, 104—114.

— —, F. Ruch und X. Berger, 1956: Monotrope Plastiden-Metamorphose. Protoplasma 45, 97—114.

Gäumann, E., und H. R. Hohl, 1960: Weitere Untersuchungen über die chemischen Abwehrreaktionen der Orchideen. Phytopath. Z. 38, 93—104.

Gautheret, R. J., 1946: Comparaison entre l'action de l'acide indole-acétique et celle du *Phytomonas tumefaciens* sur la croissance des tissus végétaux. C. r. Soc. Biol. 140, 169—171.

— —, 1957: Recherches sur les conditions du phénomène d'anergie à l'auxine. Rev. Gén. Bot. 64, 317—322.

— —, 1959: La culture des tissus végétaux. Masson & Cie., Paris, 863 S.

Gerola, F. M., 1959: Rapporti tra virus e cellule nelle piante erbacee. Ann. Micr., Milano, 9, 315—328.

Goldschmidt, R. B., 1955: Theoretical genetics. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, 563 S.

Guttenberg, H. von, und A. Beythien, 1951: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta 40, 36—69.

Hamdi, H., 1930: Über die Histogenese, Bau und Natur des sog. Pflanzenkrebses und dessen Metastase. Z. Krebsforsch. 30, 547—552.

Heitz, E., 1957: Die Struktur der Chondriosomen und Plastiden im Wurzelmeristem von *Zea Mays* und *Vicia faba*. Z. Naturforsch. 12 b, 283—286.

Heller, R., 1954: Les besoins minéraux des tissus en culture. Ann. Biol. 30, 261—281.

Hemberg, T., 1947: Studies of auxins and growth-inhibiting substances in the potato tuber and their significance with regard to its rest-period. Acta Horti Bergiani 14, 133—220.

Hildebrand, E. M., 1942: A micrurgical study of Crown-Gall infection in tomtato. J. Agr. Res. 65, 45—59.

Hirai, T., and Ch. Matsui, 1956: An electron microscope study of the wheat leaf cells infected with the wheat mosaic virus *Marmor Tritici* Holmes. Forsch. Gebiet Pflanzenkr. 6, 61—72.

Hohl, H. R., 1960: Über die submikroskopische Struktur normaler und hyperplastischer Gewebe von *Datura stramonium* L. I. Normalgewebe. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 70, 395—439.

Huxley, J., 1958: Biological aspects of cancer. George Allen & Unwin Ltd. London, 156 S.

Jacobs, W., 1952: The role of auxin in differentiation of xylem around a wound. Amer. J. Bot. 39, 301—309.

Kandler, O., 1952: Über eine physiologische Umstimmung von Sonnenblumenstengelgewebe durch Dauereinwirkung von IEE. Planta 40, 346—349.

Kehr, A. E., and H. H. Smith, 1954: Genetic tumors in *Nicotiana* hybrids. Brookhaven Symp. in Biol. 6, 55—78.

Kellenberger, E., A. Ryter and J. Séchaud, 1958: Electron microscope study of DNA-containing plasms. II. Vegetative and mature phage DNA as compared with normal bacterial nucleoids in different physiological states. J. Biophys. Biochem. Cytol. 4, 671—678.

Kelly, S. M., and L. M. Black, 1949: The origin, development and cell structure of a virus tumor in plants. Amer. J. Bot. 36, 65—73.

Klein, R. M., 1953: The probable chemical nature of Crown-Gall tumor-inducing principle. Amer. J. Bot. 40, 597—599.

— —, and R. E. Beardsley, 1957: On the role of omega bacteriophage in Crown-Gall tumor formation. Amer. Naturalist 91, 330—331.

— —, and A. C. Braun, 1960: On the presumed sterile induction of plant tumors. Science 131, 1612.

— —, and J. L. Knupp jr., 1957: Sterile induction of Crown-Gall tumors on carrot tissues in vitro. Proc. Nat. Acad. Sc. 43, 199—203.

— —, and G. K. K. Link, 1955: The etiology of Crown-Gall. Quart. Rev. Biol. 30, 207—277.

— —, E. M. Rasch and H. Swift, 1953: Nucleic acids and tumor genesis in broad bean. Cancer Res. 13, 499—502.

Klein, R. M., and A. Thomas, 1959: In vitro synthesis of the Crown-Gall tumor-inducing principle. Nature **183**, 113—114.

Knösel, D., 1957: Elektronenoptische Untersuchungen zur Kernstruktur. Zbl. Bakt., Parasitenk., Infektionskr. und Hyg. **110**, 601—611.

— —, und I. Günther, 1958: Zur Karyologie der Bakterien. Fortgeführte elektronenoptische Studien an *Agrobacterium*-Arten. Zbl. Bakt., Parasitenk., Infektionskr. und Hyg. **111**, 161—168.

Kupila, S., 1958: Anatomical and cytological comparision of the development of Crown-Gall in three host species. Ann. Bot. Soc. "Vanamo" **30**, 1—89.

Lance, C., et R. Gautheret, 1952: Sur la pérennité des propriétés tumorales des tissus de Crown-Gall et des tissus ayant subi le phénomène d'accoutumance aux auxines. C. r. Acad. Sc. **235**, 1682—1684.

Lance-Nougarède, A., 1960: Développement inframicroscopique des chromoplastes, au cours de l'ontogenèse des fleurs ligulées de *Chrysanthemum segetum* L. C. r. Acad. Sc. **250**, 173—175.

Lee, C. L., 1955: Anatomical changes in sweet clover shoots infected with wound tumor virus. Amer. J. Bot. **42**, 693—698.

— —, and L. M. Black, 1955: Anatomical studies of *Trifolium incarnatum* infected by wound-tumor virus. Amer. J. Bot. **42**, 160—168.

Lefort, M., 1959: Etude de quelques mutants chlorophylliens induits chez *Lycopersicum esculentum* Mill. Rev. Cytol. et Biol. vég. **20**, 1—159.

Levine, M., 1950: The growth of normal plant tissue in vitro as affected by chemical carcinogens and plant growth substances. I. The culture of the carrot tap-root meristem. Amer. J. Bot. **37**, 445—458.

— —, 1951: The effect of growth substances and chemical carcinogens on fibrous roots of carrot tissue grown in vitro. Amer. J. Bot. **38**, 132—138.

Leyon, H., 1953: Virus formation in chloroplasts. Exptl. Cell Res. **4**, 362—370.

L'Héritier, Ph., 1958: The hereditary virus of *Drosophila*. Advances in Virus Res. **5**, 195—245.

Lioret, C., 1957: Les acides aminés libres des tissus de Crown-Gall cultivés in vitro. Mise en évidence d'un acide aminé particulier à ces tissus. C. r. Acad. Sc. **244**, 2171—2174.

Manigault, P., et J. Salmon, 1956: Microradiographie des tissus de la plante au cours de la phase de conditionnement dans l'initiation d'une tumeur expérimentale. J. Rech. C. N. R. S. **37**, 319—327.

— —, et — —, 1958: Indices microradiographiques témoignant de la réactivité des tissus de *Pelargonium zonale* infectés par *Agrobacterium tumefaciens*. Bull. Microsc. appl. **8**, 14—20.

— —, et Ch. Stoll, 1960: Induction et croissance de tumeurs végétales exemptes de bactéries. Phytopath. Z. **38**, 1—12.

Michaelis, P., 1958 a: Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. I. Teil. Planta **51**, 600—634.

— —, 1958 b: Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. II. Teil. Planta **51**, 722—756.

Milovidov, P., 1930: Zur Zytologie der Pflanzentumoren. Protoplasma **10**, 294—296.

Morel, G., 1947: Transformations des cultures de tissus de vigne produites par l'hétéroauxine. C. r. Soc. Biol. **141**, 280—282.

— —, 1948: Recherches zur la culture associée de parasites obligatoires et des tissus végétaux. Ann. Epiphyt. N. S. **14**, 123—234.

Mühlethaler, K., und A. Frey-Wyssling, 1959: Entwicklung und Struktur der Proplastiden. J. Biophys. Biochem. Cytol. **6**, 507—512.

Nickell, L. G., 1955: Nutrition of pathological tissues caused by plant viruses. Ann. Biol. **31**, 107—121.

Noël, C., 1946: Recherches anatomiques sur le Crown-Gall. Ann. Sc. Nat. Bot. **7**, 87—145.

Oberling, Ch., 1995: Krebs, das Rätsel seiner Entstehung. Rowohlt Taschenbuch, Hamburg, **93**, 176 S.

Pozsàr, B., 1957: Chloroplast denucleination due to the effect of *Abutilon* virus. Acta Biol. Acad. Sc. Hung. **7**, 337—342.

Pringsheim, E. G., and O. Pringsheim, 1952: Experimental elimination of chromatophores and eye spot in *Euglena gracilis*. New Phytol. **51**, 65—76.

Rack, K., 1954: Untersuchungen über die Bedeutung der Verwundung und über die Rolle des Wuchsstoffes beim bakteriellen Pflanzenkrebs. Phytopath. Z. **21**, 1—44.

Rasch, E., H. Swift and M. Klein, 1959: Nucleoprotein changes in plant tumor growth. J. Biophys. Biochem. Cytol. **6**, 11—34.

Reinert, J., 1959: Über die Kontrolle der Morphogenese und die Induktion von Adventivembryonen an Gewebekulturen aus Karotten. Planta **53**, 318—333.

Renner, O., 1936: Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. Flora **30**, 218—290.

Richter, G., 1958: Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von *Acetabularia mediterranea*. Planta **52**, 259—275.

Riker, A. J., 1923: Some morphological responses of the host tissue to the Crown-Gall organism. J. Agr. Res. **26**, 425—436.

— —, 1926: Studies on the influence of some environmental factors on the development of Crown-Gall. J. Agr. Res. **32**, 83—96.

— —, 1927: Cytological studies of Crown-Gall tissue. Amer. J. Bot. **14**, 25—37.

— —, M. M. Lyneis and S. B. Locke, 1941: Comparative physiology of Crown-Gall, attenuated Crown-Gall, radiobacter and hairy root bacteria. Phytopathology **31**, 964—977.

Rubio-Huertos, M., and P. R. Desjardins, 1960: A vacuolar system in cells of *Agrobacterium tumefaciens* as shown by electron microscopy of ultrathin sections. Nature **187**, 1043—1044.

Sacher, J. A., and K. T. Glasziou, 1959: Effects of auxins on membrane permeability and pectic substances in bean endocarp. Nature **183**, 757—758.

Schimper, A. F. W., 1885: Untersuchungen über die Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. Jb. wiss. Bot. **16**, 1—247.

Schmidt, W. A. K., und W. Brucker, 1959 a: Zur Kultur und Histologie des Stengelgewebes von *Datura innoxia* Mill. in vitro. Flora **147**, 133—155.

— —, und — —, 1959 b: Zum Wachstum des Crown-Gall-Gewebes von *Datura innoxia* Mill. in vitro. Flora **147**, 242—262.

Schnepf, E., 1960: Zur Feinstruktur der Drüsen von *Drosophyllum lusitanicum*. Planta **54**, 641—674.

Schoetz, F., 1954: Über Plastidenkonkurrenz bei *Oenothera*. Planta **43**, 182—240.

— —, 1958: Beobachtungen zur Plastidenkonkurrenz bei *Oenothera* und Beiträge zum Problem der Plastidenvererbung. Planta **51**, 173—185.

Shalla, T. A., 1959: Relations of tobacco mosaic virus and barley stripe mosaic virus to their host cells as revealed by ultrathin tissue-sectioning for the electron microscope. Virology **7**, 193—219.

Sinnott, E., and R. Bloch, 1945: The cytoplasmic basis of intercellular patterns in vascular differentiation. Amer. J. Bot. **32**, 151—156.

Sitte, P., 1958: Die Ultrastruktur der Wurzelmeristemzellen der Erbse (*Pisum sativum*). Protoplasma **49**, 447—522.

Skoog, F., 1944: Growth and organ formation in tobacco tissue cultures. Amer. J. Bot. **31**, 19—24.

— —, and C. O. Miller, 1957: Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. Symp. Soc. Exper. Biol. **11**, 118—131.

Smith, E. F., 1916: Studies on the Crown-Gall of plants. Its relation to human cancer. J. Cancer Res. **1**, 231—258.

— —, 1917 a: Mechanism of tumor growth in Crown-Gall. J. Agr. Res. **8**, 165—186.

— —, 1917 b: Embryomas in plants (produced by bacterial inoculations). Bull. Johns Hopkins Hosp. **28**, 277—294.

— —, 1922: Appositional growth in Crown-Gall tumors and in cancers. J. Cancer Res. **7**, 1—105.

Smith, E. F., N. A. Brown and C. O. Townsend, 1911: Crown-Gall of plants: Its cause and remedy. U. S. Dept. Agr., Bur. Plant Indus. Bull. 213, 215 S.

Sonneborn, T. M., 1959: Kappa and related particles in *Paramaecium*. Advances in Virus Res. 6, 229—356.

Stapp, C., 1953: Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse über pflanzliche Tumoren. Zbl. Bakt., Parasitenk., Infektionskr. und Hyg. 107, 172—189.

Steffen, K., und W. Landmann, 1958: Chondriosomen-, Sphaerosomen- und Proplastidenzahlen in Beziehung zu den Differenzierungsvorgängen bei der Antherenentwicklung. Planta 51, 30—48.

Sterling, C., 1951: Origin of buds in tobacco stem segments cultured in vitro. Amer. J. Bot. 38, 761—767.

Stichel, E., 1959: Gleichzeitige Induktion von Sprossen und Wurzeln an in vitro kultivierten Gewebestücken von *Cyclamen persicum*. Planta 53, 293—317.

Stonier, T., 1956: Radioautographic evidence for the intercellular location of Crown-Gall bacteria. Amer. J. Bot. 43, 647—655.

Strunk, Ch., und H. Wartenberg, 1960: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Chloroplasten chlorotischer Maispflanzen. Phytopath. Z. 38, 109—122.

Sylwester, E., and M. Countryman, 1933: A comparative histological study of Crown-Gall and wound callus on apple. Amer. J. Bot. 20, 328—340.

Tamm, B., 1954: Experimentelle Untersuchungen über die Verbreitung des bakteriellen Pflanzenkrebses und das Auftreten von Sekundärtumoren. Arch. Mikrobiol. 20, 273—292.

Therman, E., 1956: Dedifferentiation and differentiation of cells in Crown-Gall of *Vicia faba*. Caryologia 8, 325—348.

Tokuyasu, K., and E. Yamada, 1959: Fine structure of *Bacillus subtilis*. I. Fixation. J. Biophys. Biochem. Cytol. 5, 123—128.

Treshow, M., 1955: Physiology and anatomical development of tomato fruit tumor. Amer. J. Bot. 42, 198—202.

Vogel, A., 1960 a: Die Herstellung von Schnitten für das Elektronenmikroskop durch lichtmikroskopisch ausgewählte Gewebebezirke. Z. wiss. Mikrosk. 64, 469—473.

— —, 1960 b: Zur Feinstruktur der Drüsen von *Pinguicula*. Beih. Z. Schweiz. Forstv. 30, 113—122.

Waddington, C. H., 1956: Principles of embryology. London, zit. Huxley 1958.

Wehrmeyer, W., 1959 a: Entwicklungsgeschichte, Morphologie und Struktur von Tabakmosaikvirus-Einschlußkörpern unter besonderer Berücksichtigung der fibrillären Formen. Protoplasma 51, 165—196.

— —, 1959 b: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytologie tabakmosaikvirus-infizierter Tabakpflanzen. Protoplasma 51, 242—264.

Wettstein, D. von, 1957: Chlorophyll-letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. Exptl. Cell Res. 12, 427—506.

— —, 1958: The formation of plastid structures. Brookhaven Symp. in Biol. 11, 138—159.

White, P. R., 1939: Potentially unlimited growth of excised plant callus in an artificial nutrient. Amer. J. Bot. 26, 59—64.

Wild, A., 1958: Experimentelle Beeinflussung des Granamusters einer abweichenden Plastidensorte von *Antirrhinum majus*. Planta 50, 379—387.

Yamasaki, N., 1954: Über den Einfluß von Colchicin auf Farnpflanzen. I. Die jungen Prothallien von *Polystichum craspedosorum* Diels. Cytologia Tokyo 19, 249—254.

Zaitlin, M., and N. K. Boardman, 1958: The association of tobacco mosaic virus with plastids of diseased-leaf homogenates. Virology 6, 743—757.

Ziegler, M., 1954: Untersuchungen über Wundreizreaktionen an Pflanzen. Protoplasma 44, 350—362.

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Virusserologie, Braunschweig

Serologische Verwandtschaft zwischen Kartoffel-Y-Virus, Rübenmosaik-Virus und *Phaseolus*-Virus 2

Von

R. Bercks

Einleitung

Die von Brandes und einigen anderen Autoren durchgeführten elektronenmikroskopischen Untersuchungen gestreckter Pflanzenviren haben ergeben, daß jedes derartige Virus eine charakteristische Länge, die sogenannte Normallänge, besitzt. Auf Grund dieser Befunde haben Brandes und Wetter 1959 (dort Literatur, 9) den Versuch einer Klassifizierung auf morphologischer Grundlage unternommen und Viren mit gleicher oder ähnlicher Normallänge zu Gruppen zusammengestellt.

Bereits bei der Vermessung des Rübenmosaikvirus durch Zimmer und Brandes im Jahre 1956 (15) ergab sich, daß dieses Virus eine gleiche oder ähnliche Länge wie das Kartoffel-Y-Virus bzw. die Bohnenviren 1 und 2 besitzt. Brandes vermutete schon damals, daß weitere Beziehungen zwischen diesen Viren bestehen könnten. Auf seinen Vorschlag wurden deshalb seinerzeit von Bartels und Bercks (zitiert bei 15) einige serologische Überkreuzreaktionen von Antiseren gegen Kartoffel-Y-Virus sowie gegen die Bohnenviren 1 und 2 mit Rübenmosaikvirus unternommen, die aber negativ verliefen. Neuerdings ist es in unserem Institut gelungen, gegen verschiedene gestreckte Viren einige sehr hochtitrige Seren herzustellen. Da bekannt ist, daß derartige Seren nicht so eng begrenzt wie niedrigtitrige reagieren, wurden mit ihnen erneut Überkreuzteste durchgeführt. Über die mit Kartoffel-Y-Virus, Rübenmosaikvirus und *Phaseolus*-Virus 2 erzielten Ergebnisse wird im folgenden berichtet. Eine vorläufige Mitteilung ist bereits an anderer Stelle (8) veröffentlicht worden.

Methodik

Für die Untersuchungen wurden folgende Antiseren verwendet: Zwölf verschiedene Antiseren gegen *Phaseolus*-Virus 2 (bean yellow mosaic virus,

PV2), elf Seren gegen Kartoffel-Y-Virus (potato virus Y, YV), drei Seren gegen Kartoffel-X-Virus (potato virus X, XV), je ein Serum gegen Rübenmosaikvirus (beet mosaic virus, RMV), Kartoffel-S-Virus (potato virus S, SV), carnation latent virus (CLV) und Weißkleemosaikvirus (white clover mosaic virus, WKMV). Die benutzten PV2- und YV-Antiseren hatten sehr unterschiedliche Titer. Sie betrugen bei den PV2-Seren 1 : 256 bis 1 : 256 000, bei den YV-Seren 1 : 64 bis 1 : 128 000. Die XV-Seren hatten Titer von 1 : 32 000 bis 1 : 128 000. Die Titer der übrigen Seren waren: 1 : 600 für RMV-Serum, 1 : 2048 für SV-Serum, 1 : 2048 für CLV, 1 : 500 000 für WKMV.

Zur Herstellung der Seren benutzten wir gereinigte Viruspräparate. Als Ausgangsmaterial dienten folgende Wirtspflanzen: *Vicia faba* für PV2, *Nicotiana tabacum* für XV und YV, *Stellaria media* für RMV, *Solanum tuberosum* für SV, *Dianthus barbatus* für CLV und *Phaseolus vulgaris* für WKMV. Für die Reinigung von XV und YV verwendeten wir die Methoden von PFANKUCH und KAUSCHE (12) und von BARTELS (2), für die übrigen Viren das von WETTER (13) ausgearbeitete Verfahren.

Die Injektion erfolgte intravenös oder intramuskulär nach der Freundschen Adjuvansmethode oder durch Kombination beider Verfahren. Über die Vorteile der beiden letzten Verfahren gegenüber der i. v. Immunisierung hat WETTER (13) berichtet. Die hochtitrigen Seren, die wir jeweils bei einigen unter einer größeren Anzahl gleichzeitig immunisierter Kaninchen erhielten, wurden teilweise unter Ausnutzung des booster-Effekts sowohl nach intravenöser als auch nach intramuskulärer Injektion mit Hilfe der Adjuvansmethode gewonnen. Bei einigen Seren wurde der Titer durch Ausfällung der Antikörper mit Ammoniumsulfat gesteigert (7).

Die serologischen Reaktionen führten wir mit Verdünnungsreihen von Serum und Antigen nach der Tropfenmethode auf Objektträgern durch. Bei diesem Verfahren kommt es oft nicht zur Ausbildung eines Optimums wie etwa beim Röhrchentest. Als Antigen benutzten wir durch niedrigtouriges Zentrifugieren geklärte Preßsäfte infizierter Pflanzen oder nach den oben genannten Verfahren hergestellte Präparate folgender Viren: vier Isolate von *Phaseolus*-Virus 2 (PV2), drei Isolate von Kartoffel-Y-Virus (YV), zwei Isolate von Kartoffel-X-Virus (XV) und je ein Isolat von Rübenmosaik-Virus (RMV), cowpea-Virus (Isolat von BAWDEN, CoV), Weißkleemosaikvirus (WKMV), Rotkleeadernmosaikvirus (red clover vein mosaic virus, EKV) und M-Virus (potato virus M, MV).

Experimenteller Teil

Tabelle 1 gibt eine allgemeine Übersicht über die durchgeführten Reaktionen und die dabei erzielten Ergebnisse. Es ist daraus zu ersehen, daß Antiseren gegen PV2 mit YV und RMV reagierten und daß ebenso YV-Serum mit PV2 und RMV reagierte. Das Serum gegen RMV reagierte offenbar wegen seines geringen Titers nur mit dem homologen Antigen. Kontrollen mit verschiedenen anderen Viren und Säften gesunder Pflanzen

verliefen negativ. Eine Reihe von heterologen Reaktionen mit Seren gegen XV, SV, CLV und WKMV, die in gleicher Weise zur Kontrolle durchgeführt wurden, ergaben ebenfalls negative Resultate. Eine Ausnahme machten lediglich Überkreuzreaktionen zwischen XV und WKMV, auf die wir noch in der Diskussion eingehen werden.

Tabelle 1

Übersicht über die durchgeführten serologischen Reaktionen

Antigen	Seren							
	PV 2	YV	RMV	XV	SV	CLV	WK-MV	Normal-Serum
PV 2 Saft aus *Vicia faba*	+[1])	+	—	—				—
PV 2 Reinigung aus *Vicia faba*	+	+			—	—		-
YV Saft aus *N. tabacum*	+	+	—					—
YV Reinigung aus *N. tabacum*	+	+						-
RMV Saft aus *Stellaria media*	+	+	+	—				—
RMV Reinigung aus *Stellaria media*	+	+	+	—				—
XV Saft aus *N. tabacum*	—	—		+			+	—
XV Reinigung aus *N. tabacum*	—	—			—	—		--
CoV Reinigung aus *Phaseolus vulgaris*	—	—		—				
EKV Reinigung aus *Pisum sativum* + *Vicia faba*		—		—			—	--
WKMV Reinigung aus *Phaseolus vulgaris*	—	—		+			+	
MV Reinigung aus *Lycopersicum esculentum*	—	—						
Vicia faba Saft	—	—		—				—
Vicia faba Reinigung	—	—						—
N. tabacum Saft	—	—		—				--
Stellaria media Saft	—	—	—					—

[1]) + = positiv, — = negativ.

Der Grad der Überkreuzreaktionen war weitgehend vom homologen Titer der Seren abhängig. Seren mit sehr hohem homologen Titer ergaben auch die stärksten heterologen Titer. In Tabelle 2 sind drei Beispiele von PV2-Antiseren aufgeführt worden. Der homologe Titer des ersten Serums betrug 1 : 128 000, der des zweiten 1 : 2048. Als Antigen verwendeten wir zwei Präparate des YV. Das zweite Serum reagierte nur schwach mit dem ersten Präparat und überhaupt nicht mit dem zweiten. Das Verhalten des zweiten Präparates ist durch eine geringere Viruskonzentration bedingt, wie

Tabelle 2

Reaktionen von drei PV2-Seren mit Präparaten von zwei YV-Isolaten

PV 2-Serum		YV-Stamm Lü						YV-Stamm DJ				
		K	2	4	8	16	32	K	2	4	8	16
Nr. 1	K	3[1])	2	1	Sp	0	0	1	1	0	0	0
Titer:	2	3	2	1	Sp	Sp	0	1	1	0	0	0
1 : 128 000	4	2	2	1	0/1	Sp	0	0/1	0/1	Sp	0	0
	8	2	2	1/2	0/1	0	0	0/1	0/1	0/1	Sp	0
	16	2	2	1	0/1	Sp	0	0/1	Sp	Sp	0	0
	32	1	0/1	0/1	0/1	0	0	0	0	0	0	0
	64	0/1	0/1	0/1	0/1	0	0					
	128	0/1	0/1	0/1	0/1	Sp	0					
	256	0	0	0	0	0	0					
Nr. 2	K	3	2	0/1	0	0	0	0	0	0	0	0
Titer:	2	0/1	Sp	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 2048	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nr. 3	K	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Titer:	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 : 256	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[1]) Bonitierung von 0 bis 4, Sp = Spuren.

homologe Reaktionen mit einem YV-Serum bewiesen. Ein drittes PV2-Serum mit dem geringen Titer 1 : 256 ergab in keinem Fall eine Reaktion. In ähnlicher Weise verliefen auch alle anderen Reaktionen zwischen PV2-Serum und YV. Für die Reaktion der PV2-Seren gegen RMV gibt Tabelle 3 ein Beispiel. Es handelt sich dabei um das in der Tabelle 2 an erster Stelle aufgeführte Serum. Ein Serum mit dem homologen Titer 1 : 1024 reagierte dagegen nicht. Sämtliche Überkreuzreaktionen mit dem RMV verliefen schwächer als mit YV. Daraus kann aber nicht der Schluß gezogen werden, daß eine geringere Verwandtschaft vorliegt; vielmehr ist eher anzunehmen, daß eine geringere Konzentration des RMV vorgelegen hat.

Tabelle 3

Reaktionen eines PV2-Serums mit RMV

PV 2-Serum	RMV			
	2	4	8	16
2	0	0	0	0
4	0/1	0	0	0
8	0,1	Sp	0	0
16	1	0/1	0	0
32	0/1	0/1	Sp	0
64	0	0	0	0

In einer früheren Arbeit (7) ist darauf hingewiesen worden, daß die Konzentration des PV 2 in Preßsäften sehr unterschiedlich ist und Preßsäfte deshalb im serologischen Test auch sehr unterschiedlich reagieren. Diese Tatsache erschwerte die Durchführung der Überkreuzreaktionen, indem wir des öfteren negative Resultate erhielten. Ferner scheinen vom homologen Titer unabhängige individuelle Unterschiede einzelner Seren

zu bestehen. Bei einer Prüfung von zwei YV-Seren mit Y-Antigen hatte das erste Serum einen Titer von 1 : 32 000 und das zweite einen Titer von 1 : 64 000. Trotzdem reagierte, wie Tabelle 4 zeigt, das erste Serum bei einer vergleichenden Prüfung besser mit PV 2 als das zweite. Ein gleichzeitiger Test mit einem YV-Serum, das nur einen Titer von 1 : 256 hatte, verlief negativ.

Tabelle 4

Reaktionen von zwei YV-Seren mit PV2

YV-Serum		PV 2		
		8	32	64
Nr. 1	K	2	1	Sp
	2	2	0/1	Sp
	4	0/1	0/1	Sp
	8	Sp	0/1	Sp
	16	0	0	0
Nr. 2	K	0/1	1	0/1
	2	Sp	Sp	Sp
	4	0	0	0

Tabelle 5

Reaktion eines YV-Serums mit RMV

YV-Serum	RMV			
	K	2	4	8
K	0	0	0	0
2	1	0/1	0	0
4	0/1	0/1	0	0
8	1	Sp	0	0
16	1/2	0,1	Sp	0
32	1/2	0/1	Sp	0
64	1	0/1	Sp	0
128	Sp	Sp	0	0
256	0	0	0	0

Ebenso wie die PV2-Seren ergaben die YV-Seren mit RMV im allgemeinen besonders schwache Reaktionen, die sich vor allem bei der Antigenverdünnung bemerkbar machten. In Tabelle 5 ist die Überkreuzreaktion eines YV-Serums, das den homologen Titer von 1 : 128 000 hatte, mit RMV dargestellt.

Tabelle 6

Die höchsten bei Überkreuzreaktionen von PV2- und YV-Seren mit PV2, YV und RMV erhaltenen Serum- und Antigen-Titer

	Serum-Titer			Antigen-Titer		
	PV 2	YV	RMV	PV 2	YV	RMV
PV 2-Serum		1:128	1:32		1:16	1:8
YV-Serum	1:8		1:256	1:128		1:4

Tabelle 6 gibt die höchsten bei den Überkreuzreaktionen erhaltenen Serum- und Antigentiter wieder. Die unterschiedlichen Titer sind nicht als Zeichen einer unterschiedlichen Verwandtschaft anzusehen, da die verwendeten Viruskonzentrationen sicher verschieden waren.

Diskussion

Die geringen bei den Überkreuzreaktionen erhaltenen Titer können die Frage aufwerfen, ob es sich wirklich um Verwandtschaftsreaktionen zwischen den untersuchten Viren handelt, d. h., ob die Versuche methodisch

einwandfrei durchgeführt worden sind. Grundsätzlich wären zwei Einwände denkbar: 1. Sowohl bei den zur Serumherstellung als auch bei den für die Testung verwendeten Viren haben Gemische vorgelegen, 2. die Ergebnisse sind durch Reaktionen von normalen Pflanzenproteinen vorgetäuscht worden. Hinsichtlich des ersten Einwandes ist zu sagen, daß jeweils eine Komponente des Gemisches infolge von Interferenzen immer nur in geringer Konzentration vorgelegen haben müßte und bei den verschiedensten Seren und geprüften Antigenen wirksam gewesen wäre. Dies wäre sehr unwahrscheinlich. Entscheidend wird diese Möglichkeit aber für PV2 und YV dadurch widerlegt, daß die verwendeten Wirtspflanzen jeweils das zweite Virus ausschließen. Hinsichtlich des zweiten Einwandes liegt ebenfalls kein Anhaltspunkt vor. Bei der Prüfung von Pflanzensäften ergaben die Kontrollen mit virusfreien Säften in keinem Fall eine Reaktion. Bei der Untersuchung der gereinigten Viren ist zu bemerken, daß YV und XV auf der gleichen Wirtspflanze (Tabak) kultiviert und die Reinigungen nach demselben Verfahren durchgeführt wurden. Zwischen diesen Viren vorgenommene Überkreuzversuche ergaben keine positiven Ergebnisse, so daß bei den Reaktionen keine normalen Proteine mitgewirkt haben können. Für PV2 wurde diese Möglichkeit durch Prüfung einer Reinigung von *Vicia faba* ausgeschlossen. Unsere Befunde wurden weiterhin dadurch gesichert, daß Antiseren gegen verschiedene andere Viren keine heterologen Reaktionen zeigten. Eine Ausnahme machen nur XV und WKMV, worauf wir weiter unten noch eingehen werden. Es ist demnach kein Zweifel daran möglich, daß die Untersuchungen Verwandtschaftsbeziehungen zwischen YV, RMV und PV2 aufgedeckt haben. Zur Feststellung des Verwandtschaftsgrades sind Absättigungsversuche geplant.

Bisher war die Meinung weit verbreitet, daß serologische Beziehungen nur zwischen verschiedenen Stämmen eines Virus bestehen und serologische Untersuchungen eine verläßliche Grundlage für die Unterscheidung verschiedener Viren bilden. Allerdings sind schon seit längerem einige Fälle bekannt, bei denen Viren unterschieden werden, obgleich zwischen ihnen eine geringe serologische Verwandtschaft besteht. In den letzten Jahren ist die Situation dadurch weiter kompliziert worden, daß auch zwischen Stämmen eines Virus nur geringe serologische Beziehungen gefunden wurden.

BAWDEN und PIRIE (4) beobachteten bereits im Jahre 1937 eine schwache serologische Verwandtschaft zwischen Tabakmosaikvirus und den Gurkenviren 3 und 4. Röntgenographische Untersuchungen ergaben ferner, daß sich diese Viren, die übrigens auch chemisch verschieden sind, in der Dicke der Partikeln unterscheiden (Literatur bei KNIGHT, 10). BEEMSTER und VAN DER WANT (5) stellten eine serologische Beziehung zwischen *Phaseolus*-Virus 1 und 2 fest, die von uns bestätigt wurde (7). Ebenso wird zwischen SV, MV und CLV unterschieden, obwohl sie serologisch verwandt sind (1). WETTER et al. (14) erhielten schwache positive serologische Reaktionen zwischen verschiedenen Isolaten des pea streak-virus und des red clover vein mosaic virus, die eine unterschiedliche Normallänge besitzen. Allerdings

konnten die Autoren eine beiderseitige Verunreinigung nicht völlig ausschließen. Eine nur geringe serologische Verwandtschaft zwischen Stämmen eines Virus beobachteten erstmalig KNIGHT und STANLEY (11) bei dem rib grass-Stamm und den „Normal"-Stämmen des Tabakmosaikvirus. BARTELS (3) verglich einige Isolate des YV miteinander und stellte ein stark abweichendes Verhalten eines von SILBERSCHMIDT isolierten Stammes fest. Eigene Untersuchungen (7) an Stämmen des PV2 ergaben, daß ein Isolat aus Wundklee (*Anthyllis vulneraria*) nur wenige antigene Gruppen mit anderen Isolaten gemeinsam hatte.

Die angeführten Beispiele zeigen, daß eine nur geringe serologische Verwandtschaft nicht immer die Frage entscheiden kann, ob Virusisolate als Stämme eines Virus oder als selbständige Viren anzusehen sind und daß wir somit in manchen Fällen für diese Entscheidung kein sicheres Kriterium besitzen. Andererseits beweisen die vorliegenden Ergebnisse, daß Viren, deren Selbständigkeit nach unseren heutigen Kenntnissen nicht angezweifelt werden kann, serologisch miteinander verwandt sind, selbst wenn sie eine elektronenmikroskopisch feststellbare unterschiedliche Normallänge besitzen. Die hier mitgeteilten Befunde stellen offenbar keinen Einzelfall dar. Gemeinsam mit BRANDES durchgeführte, noch unveröffentlichte Untersuchungen haben ähnliche Ergebnisse für WKMV, XV und *Hydrangea* ringspot-Virus ergeben (s. auch Tab. 1). Sie unterstützen die von BRANDES und WETTER vorgenommene Klassifizierung zumindest bei den von uns untersuchten Viren. Bereits früher (6, S. 172 f.) ist auf Grund anderer Versuche von uns die Vermutung geäußert worden, daß sich bei der Intensivierung serologischer Untersuchungen „Reaktionsketten" aufdecken lassen, die weiter verwandte Viren miteinander verknüpfen, und daß die Serologie auf diesem Wege einen Beitrag zur Evolution der Viren liefern kann. Die Zukunft wird zeigen, in welchem Umfang das möglich ist. Dabei wird es wahrscheinlich in vielen Fällen notwendig sein, mit möglichst hochtitrigen Seren und empfindlichen Methoden zu arbeiten.

BAGNALL et al. (1) sowie BRANDES und WETTER (9) haben in Erwägung gezogen, für Gruppen von Viren, die als selbständig angesehen werden, aber verwandt sind, wie SV, MV und CLV, jeweils die Bezeichnung Genus zu benutzen. Dementsprechend könnten auch YV, RMV und PV2 zu einem Genus zusammengefaßt werden, dem sehr wahrscheinlich noch weitere Viren angehören würden.

Wir haben im Vorstehenden vermieden, den Begriff Virusart zu benutzen; aber wenn man, wie allgemein üblich, von Virusstämmen spricht, ist es folgerichtig, auch von Arten und Gattungen zu sprechen. Es sollte dabei allerdings nicht vergessen werden, daß die Verwendung derartiger taxonomischer Begriffe zur Klassifizierung pflanzenpathogener Viren nur eine Analogie zu der Bedeutung der sonst in der Biologie verwendeten Begriffe darstellt, weil die Viren keine Lebewesen sind. Unabhängig davon, wie man sich die Entstehung der Viren vorstellt und unabhängig von der Frage, welches Nomenklatur-Schema zweckmäßig ist, erscheint eine Klassifizierung, die

auf natürlicher Verwandtschaft beruht, möglich, da die Ergebnisse der letzten Jahre darauf schließen lassen, daß die Viren einer Evolution unterworfen sind. Aus diesem Grunde vermögen unverbindliche Bezeichnungen wie „Gruppe" auf die Dauer nicht zu befriedigen. Es wäre allerdings denkbar, daß bei einer weiteren chemischen Erforschung der Viren eine Klassifizierung nach einer in der Chemie gebräuchlichen Nomenklatur möglich wird.

Zusammenfassung

Durch Überkreuzreaktionen wurde eine geringe serologische Verwandtschaft zwischen Kartoffel-Y-Virus, Rübenmosaik-Virus und *Phaseolus*-Virus 2 festgestellt. Für die Prüfungen erwiesen sich vor allem sehr hochtitrige Seren als geeignet. Das einzige vorhandene Antiserum gegen Rübenmosaik-Virus mit dem verhältnismäßig geringen Titer 1 : 600 ergab keine heterologen Reaktionen. Als Antigen wurden Preßsäfte infizierter Pflanzen und gereinigte Viruspräparate verwendet. Außer den üblichen Kontrollen wurden auch andere heterologe Prüfungen durchgeführt (s. Tab. 1). Die Ergebnisse zeigen, daß eine serologische Verwandtschaft zwischen Viren bestehen kann, selbst wenn sie eine elektronenmikroskopisch feststellbare, unterschiedliche Normallänge besitzen. Sie unterstützen die von BRANDES und WETTER vorgenommene Klassifizierung auf morphologischer Grundlage und zeigen, daß offenbar eine Einteilung der Viren auf Grund natürlicher Verwandtschaft möglich ist. Fragen der serologischen Verwandtschaftsreaktionen und der Nomenklatur werden diskutiert.

Den Herren Dr. R. BARTELS und Dr. C. WETTER danke ich für die Überlassung einiger Antiseren und gereinigter Viruspräparate. Fräulein G. QUERFURTH danke ich für die Durchführung der Untersuchungen.

Summary

Distant serological relationships between potato virus Y, beet mosaic virus, and bean yellow mosaic virus were established by reciprocal testings. Very high titered antisera were especially suitable for these tests. The only available antiserum to beet mosaic virus with the comparable low titer of 1 : 600 did not react with the two heterologous antigens. Expressed sap of infected plants and purified virus preparations were used as antigens. In addition to common controls testings against other heterologous antigens were carried out. The results demonstrate serological relationships between viruses which differ in their normal lengths. The findings support the scheme of classification on the basis of particle morphology by BRANDES and WETTER and evidently show that it is possible to classify viruses on the basis of natural relationships. Problems of relationships between viruses and those of nomenclature are discussed.

Literaturverzeichnis

1. Bagnall, R. H., C. Wetter and R. H. Larson, 1959: Differential host and serological relationships of potato virus M, potato virus S, and carnation latent virus. Phytopathology **49**, 435—442.
2. Bartels, R., 1957: Ein Beitrag zum serologischen Nachweis des Y-Virus in der Kartoffel. Phytopath. Z. **30**, 1—16.
3. — —, 1958: Serologische Differenzierungsversuche mit Stämmen des Kartoffel-Y-Virus. Proc. 3rd Conf. Potato Virus Diseases, Wageningen-Lisse, **1957**, 13—19.
4. Bawden, F. C., and N. W. Pirie, 1957: The relationship between liquid crystalline preparations of cucumber viruses 3 and 4 and strains of tobacco mosaic virus. Brit. J. Exp. Path. **18**, 275—291.
5. Beemster, A. B. R., and J. P. H. van der Want, 1951: Serological investigations on the *Phaseolus* viruses 1 and 2. Antonie van Leeuwenhoek, **17**, 285—296.
6. Bercks, R., 1958: Serologie pflanzlicher Viren. In Klinkowski, Pflanzliche Virologie **I**, 162—176.
7. — —, 1960: Serologische Untersuchungen zur Differenzierung von Isolaten des *Phaseolus*-Virus 2 und ihrer Verwandtschaft mit *Phascolus*-Virus 1. Phyotpath. Z. **39**, 120—128.
8. — —, 1960: Serological relationships between beet mosaic virus, potato virus Y, and bean yellow mosaic virus. Virology **12**, 311—313.
9. Brandes, J., and C. Wetter, 1959: Classification of elongated plant viruses on the basis of particle morphology. Virology **8**, 99—115.
10. Knight, C. A., 1955: Are cucumber virus 3 and 4 strains of tobacco mosaic virus? Virology **1**, 261—267.
11. — —, and W. M. Stanley, 1941: Aromatic amino acids in strains of tobacco mosaic virus and in the related cucumber viruses 3 and 4. J. Biol. Chem. **141**, 39—49.
12. Pfankuch, E., und G. A. Kausche, 1938: Über Darstellung, Eigenschaften und quantitative Bestimmung von Tabakmosaikvirus und Kartoffel-X-Virus und ihre physikochemische Differenzierung. Biochem. Z. **299**, 334—345.
13. Wetter, C., 1960: Partielle Reinigung einiger gestreckter Pflanzenviren und ihre Verwendung als Antigene bei der Immunisierung mittels Freundschen Adjuvans. Arch. Mikrobiol. **37**, 278—292.
14. — —, L. Quantz und J. Brandes, 1959: Verwandtschaft zwischen dem Stauchevirus der Erbse und dem Rotkleeadernmosaik-Virus (red clover vein mosaic virus). Phytopath. Z. **35**, 201—204.
15. Zimmer, K., und J. Brandes, 1956: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Rübenmosaik-Virus. Phytopath. Z. **26**, 439—442.

Berichtigung

In der Arbeit von R. Bercks „Serologische Untersuchungen zur Differenzierung von Isolaten des *Phaseolus*-Virus 2 und ihrer Verwandtschaft mit *Phaseolus*-Virus 1", **39**, 120—128, sind in der Tabelle auf Seite 123 folgende Berichtigungen notwendig:

Bei den jeweils unter b) aufgeführten Relativwerten muß es statt $^1/_{15}$ bzw. $^1/_{16}$ heißen: $^1/_{1,5}$ bzw. $^1/_{1,6}$.

Eidgenössische landwirtschaftliche Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon
Direktion: Dr. R. Salzmann

Über das Vorkommen der Gelbverzwergung des Getreides (*Hordeumvirus nanescens*) in der Schweiz

Von

F. Kobel

Mit 5 Abbildungen

Die erstmals von Oswald und Houston (1951) in Kalifornien beschriebene Gelbverzwergung (Barley Yellow Dwarf Disease) ist vermutlich die in Europa am weitesten verbreitete Getreidevirose. Klinkowski und Kreuzberg (1958) erwähnten ihr Vorkommen in Holland, England, Finnland und Norwegen, Rademacher und Schwarz (1958) bewiesen ihr Vorhandensein in Deutschland, wobei es ihnen gelang, die von Rademacher in den Jahren 1932 und 1935 beschriebene Blattröte des Hafers mit Oswald und Houstons Getreidevirose zu identifizieren.

Die ersten Anhaltspunkte über das Auftreten dieser Virose in der Schweiz ergaben sich im Spätsommer 1957 anläßlich einer Studienreise in Begleitung von J. C. Zadoks durch einige Gebirgstäler. Wir fanden damals in Ernen (Kt. Wallis) auf 1200 m Gerstenfelder mit ausgeprägten Nestern stark vergilbter Pflanzen. Der Nachweis, daß es sich dabei um eine Virose handelte, gelang jedoch nicht, da die ausgegrabenen Pflanzen eingingen bevor Blattlauskolonien angesiedelt werden konnten.

Im Sommer 1960 wurde die gleiche Gegend wieder besucht. Auf den Gerstenfeldern fehlten die typischen Vergilbungserscheinungen, dagegen fanden wir in Haferfeldern einzelne Pflanzen mit ausgeprägten Virussymptomen (Rotblättrigkeit, gestauchter Wuchs, unvollständig geschobene Rispen). Einige dieser Pflanzen wurden ausgegraben und im Gewächshaus zur Prüfung auf Virusbefall eingetopft.

1. Versuche mit spontan erkrankten Haferpflanzen aus einer Gebirgslage

Die Blattläuse für die Übertragungsversuche (*Rhopalosiphon padi* L.) stammten aus unserem Winterweizenzuchtgarten in der Nähe von Zürich.

Sie wurden kurz vor der Getreideernte gesammelt und waren nur noch in sehr geringer Zahl zu finden. Je zwei Läuse wurden auf jeder kranken Pflanze zur Koloniebildung ausgesetzt. Entsprechende Kolonien wurden auf Weizenjungpflanzen angelegt, welche im Gewächshaus aufgezogen und deshalb sicher virusfrei waren. Durch Einbeuteln mit Pergaminsäcken wurde dafür gesorgt, daß keine Abwanderungen und Vermischungen auftraten. Nach drei Wochen Aufzucht unter Zusatzlicht waren die Zuchten so individuenreich, daß eine genügende Zahl von Gersten- und Haferjungpflanzen infiziert werden konnte.

Infektion: Die Jungpflanzen wurden in 10-cm-Töpfen angezogen und im Einblattstadium infiziert. Auf jede Pflanze wurden zwei Läuse ausgesetzt, ein Teil der Pflanzen wurde als Kontrolle blattlausfrei belassen. Sämtliche Pflanzen wurden mit Cellophansäcken isoliert um ein Abwandern der Läuse zu verhindern. Nach 48 Stunden wurden die Säcke entfernt und die Läuse durch Basudinrauch abgetötet. Bis zum Auftreten der ersten Symptome wurden die Pflanzen in den 10-cm-Töpfen belassen; anschließend wurden einige Pflanzen in größere Töpfe umgetopft und bis zur Blütezeit im Gewächshaus aufgezogen. Ein Teil der so aufgezogenen virusfreien Kontrollpflanzen wurde im Stadium 7 der „FEEKES-Skala", d. h. nach der Bildung des zweiten Halmknotens, mit je etwa 20 Läusen infiziert, um die Symptome nach späterem Befall kennenzulernen.

Symptome: Bei Haferpflanzen traten die ersten Symptome ungefähr 14 Tage nach der Keimpflanzeninfektion auf. Das infizierte Primärblatt blieb in der Regel symptomlos. Auf dem zweiten Blatt zeigten sich, über die distalen Hälften der Blattspreiten verstreut zahlreiche fleckige rötliche Verfärbungen. Bei hohen Luftfeuchtigkeiten erschienen diese Flecke oft durchscheinend, wie mit Wasser durchtränkt. Ähnliche Verfärbungen zeigten sich anschließend auf den späteren Blättern kurz nach deren Bildung. Schon nach drei Wochen blieben die infizierten Pflanzen gegenüber den Kontrollen deutlich im Wachstum zurück; nach acht Wochen ergab sich das in Abbildung 1 dargestellte Befallsbild. Einzelne Pflanzen vermochten die Rispen nicht zu schieben; bei den andern erfolgte die Blüte verzögert, und die Rispen waren stark flissig. Die infizierten

Abb. 1. Symptome der Gelbverzwergung auf Hafer. Links: Kontrollen, rechts: kranke Pflanzen acht Wochen nach der im Einblattstadium erfolgten Infektion

Pflanzen erreichten nur die Hälfte bis zwei Drittel der Höhe der Kontrollpflanzen. Starke Rotfärbung der Blätter, wie sie im Freiland beobachtet wird, trat im Gewächshausversuch bei Frühinfektion nicht auf.

Die in einem späteren Stadium infizierten Pflanzen wurden im Wachstum nur wenig beeinträchtigt. Dagegen waren die Rispen deutlich stärker flissig als die der Kontrollpflanzen. Vor allem aber zeichneten sich diese Pflanzen durch stark karminrote, etwas streifige Blattverfärbungen der obersten drei Blätter aus.

Bei Gerstenjungpflanzen waren die Symptome 14 Tage nach der Infektion noch sehr undeutlich. Nach drei Wochen zeigten die Blätter der infizierten Pflanzen gelbe Aufhellungen an der Spitze und waren steifer und etwas mehr schraubig gedreht als die entsprechenden Blätter der Kontrollpflanzen. Wachstumsdepressionen waren nach etwa vier Wochen deutlich sichtbar. Die sich bildenden Nebenschosse zeigten einen sparrigen Wuchs und blieben stark zurück. Das Befallsbild acht Wochen nach der Infektion ist in Abbildung 2 dargestellt. Das Ährenschieben erfolgte verzögert. Der Halm unterhalb der Ähre war häufig schraubig gestaucht, und die Basal- und Spitzenährchen blieben steril. Die kranken Pflanzen erreichten ungefähr zwei Drittel der Höhe der Kontrollpflanzen. Sämtliche Blätter waren an der Spitze vergilbt und zum Teil eingerollt.

Abb. 2. Symptome der Gelbverzwergung auf Gerste. Links: Kontrollen, rechts: kranke Pflanzen acht Wochen nach der im Einblattstadium erfolgten Infektion

Bei Spätinfektion traten nur undeutliche Symptome auf. Wachstumsdepressionen und Ährensymptome fehlten; einzig ein stärkeres Vergilben und Einrollen der Blätter ließ sich beobachten.

Infektionserfolg: Das quantitative Resultat dieses Infektionsversuches ist in der Tabelle zusammengestellt.

Übertragungsversuch mit *Rhopalosiphon padi*
Infektionsmaterial: blattroter Hafer aus Ernen (Kt. Wallis);
Kontroll-Läuse angezogen auf virusfreien Weizenpflanzen

Rh. padi angezogen auf	Haferjungpflanzen			Gerstenjungpflanzen		
	infiziert	krank	% Befall	infiziert	krank	% Befall
blattrotem Hafer						
Pfl. Nr. 1	20	14	70	20	18	90
Pfl. Nr. 2	20	12	60	20	10	50
Pfl. Nr. 3	20	17	85	18	12	67
Pfl. Nr. 4	19	19	100	20	15	75
Pfl. Nr. 5	20	8	40	20	5	25
total	99	70	70,4	98	60	61,2
virusfreiem Weizen						
Pfl. Nr. 1	20	0	0	20	0	0
Pfl. Nr. 2	20	0	0	18	0	0
Pfl. Nr. 3	20	7	35	20	4	20
Pfl. Nr. 4	20	0	0	20	0	0
	blattlausfreie Kontrolle					
	50	0	0	50	0	0

2. Versuche mit vergilbten Weizenpflanzen aus dem Gewächshaus

Bei der Anzucht von Zwischengenerationen von Weizen im Gewächshaus über den Winter für züchterische Zwecke sind uns gelegentlich Vergilbungserscheinungen aufgefallen, die wir mit keiner bekannten Krankheit identifizieren konnten. Solche Verfärbungen traten meistens nesterweise auf; die erkrankten Pflanzen blieben im Wuchs zurück, und der Kornansatz war mangelhaft. Im Spätsommer 1960 konnten wir beobachten, daß die Krankheitsnester mit denjenigen Stellen übereinstimmten, an welchen sich aus dem Freiland zugeflogene Blattläuse (*Rhopalosiphon padi*) stark vermehrt hatten, was auf eine Virose schließen ließ.

Zur Klärung dieser Frage wurden auf den durch Räuchern blattlausfrei gemachten Weizenpflanzen virusfreie Läuse ausgesetzt. Nach drei Wochen waren die Kolonien genügend stark, um Übertragungsversuche auszuführen. Die Infektion erfolgte nach der oben beschriebenen Methode. Als Indikatorpflanzen dienten wiederum Gersten- und Haferjungpflanzen.

Resultat: Die auf den vergilbten Weizenpflanzen parasitierenden Läuse verursachten auf den Gersten- und Haferpflanzen Symptome, die sich von den oben beschriebenen nicht unterschieden. Sie traten bei Hafer ebenfalls nach zwei Wochen, bei Gerste nach drei Wochen deutlich in Erscheinung. Von 50 mit je zwei Läusen infizierten Haferpflanzen erkrankten 36 (= 72 %), bei Gerste waren 58 % der Übertragungen erfolgreich. Die Spätinfektionen bewirkten bei Hafer ebenfalls starke Rotblättrigkeit, während bei Gerste

nur undeutliche Symptome beobachtet wurden. Aus diesem Versuch kann man schließen, daß die im Gewächshaus beobachtete Vergilbung des Weizens ebenfalls durch *Hordeumvirus nanescens* verursacht wurde.

Symptome auf Weizen: In der Literatur findet man nur wenige und zudem voneinander abweichende Beschreibungen der Symptome von Cereal Yellow Dwarf auf Weizen. Die Beobachtungen, welche hier an Hand von Gewächshauspflanzen gemacht werden konnten, lassen sich vermutlich nicht ohne weiteres auf Freilandpflanzen übertragen. Immerhin fanden wir gelegentlich auch in den Zuchtgärten Vergilbungen, die sich von den als virusbedingt nachgewiesenen Symptomen nicht unterscheiden.

Auf den Blättern treten die Symptome nach der Infektion von jungen Pflanzen des 2- bis 4-Blattstadiums nach fünf bis sechs Wochen auf. Sie erscheinen als ziemlich atypische Vergilbungen, die sich von der Blattspitze ausgehend in kleinen, später zusammenfließenden Flecken basiswärts bis ungefähr zur Blattmitte ausdehnen. Die Blattspitze selbst wird bald vollständig gelb; die Blattränder vergilben stärker als die Mitte der Blattspreite. Charakteristischer sind die Verfärbungen der obersten Blätter einer erwachsenen Pflanze. Die Vergilbung dehnt sich in Form von schmalen Streifen oder länglichen Flecken von der Spitze her basiswärts aus. Dabei können einige Interkostalfelder noch längere Zeit grün bleiben und als lange grüne Striche in die sonst vollständig vergilbte Blattspitze hineinragen (Abb. 3). Dieses Symptom unterscheidet die Virose von allen durch Pilze verursachten Blattdürren sowie von den bis jetzt beschriebenen Mangelerscheinungen. Die Vergilbung kann das ganze Blatt erfassen, und gelegentlich verfärben sich auch noch die Blattscheiden.

Abb. 3. Symptome der Gelbverzwergung auf Fahnenblättern von Weizen. Links gesundes Blatt

Die Ähren der frühzeitig erkrankten Pflanzen werden nur mangelhaft geschoben. Sie verlassen die Blattscheiden oft seitwärts, und der Halm bleibt kurz. Meistens sind die Spitzenährchen steril, gelegentlich abortieren sie vollständig (Abb. 4). Bei gewissen Sorten, z. B. bei Cappelle, wird die Ährenspindel manchmal wellenförmig zusammengestaucht (Abb. 5), auch der Halm unter der Ähre ist häufig wellig verkrümmt. Offenbar bestehen bei den Ährensymptomen sortentypische Unterschiede; auch die Heftigkeit der Blattvergilbungen ist je nach Sorte unterschiedlich.

Abb. 4. Symptome der Gelbverzwergung auf Weizenähren Sorte Probus. Links: gesunde Ähre, rechts: kranke Ähren mit sterilen Spitzenährchen

Abb. 5. Symptome der Gelbverzwergung auf Weizenähren Sorte Cappelle. Spitzensterilität, welliges Zusammenstauchen der Spindel

3. Diskussion

Die Infektion der im Gewächshaus erkrankten Weizenpflanzen erfolgte durch Blattläuse, die in der ersten Hälfte Juli aus dem Freiland zuflogen. Daraus kann man schließen, daß die Virose im Sommer ziemlich weit verbreitet sein muß. Auch die Tatsache, daß einige der auf virusfreien Pflanzen aufgezogenen, aber im Freiland gesammelten Läuse des ersten Versuches die Krankheit übertrugen, unterstützt diese Ansicht. Wahrscheinlich überdauert das Virus in perennierenden Gräsern, von denen mehrere als Wirte beschrieben sind. Im Verlauf des Sommers wird die Krankheit durch *Rhopalosiphon padi* oder andere als Vektoren bekannte Blattläuse auch auf Getreidefelder verschleppt. In den meisten Fällen erfolgt aber die Infektion so spät, daß das Vergilben der Blätter mit dem normalen Abreifungsprozeß zusammenfällt und deshalb kaum in Erscheinung tritt. Auch Schäden sind bis jetzt nicht nachgewiesen worden.

In den Herbstmonaten 1960 fand man regelmäßig in den Nachfuttergemengen vereinzelte viruskranke Haferpflanzen. Größere Krankheitsnester waren aber selten, weil offenbar die Vektoren im kritischen Zeitpunkt bereits spärlich waren und geringe Vermehrungsraten aufwiesen.

In den Berglagen kann die Krankheit dann deutlicher in Erscheinung treten, wenn virustragende Läuse aus tieferen Lagen durch Windströmungen

zu einer Zeit eingeschleppt werden, wo die Getreidepflanzen noch so jung sind, daß die Symptome vor dem normalen Abreifen sichtbar werden.

Eigentliche Epidemien sind nur in solchen Gebieten zu erwarten, wo das Massenauftreten der Vektoren mit frühen Jugendstadien des Getreides zusammenfällt. Diese Bedingungen waren offenbar 1959 in größeren Gebieten der USA gegeben (McGrath und Miller 1960), wo die Krankheit vor allem auf Hafer sehr große Schäden verursachte.

Zusammenfassung

Das Vorkommen der Gelbverzwergung des Getreides (*Hordeumvirus nanescens*) wurde erstmals für die Schweiz experimentell bestätigt. Übertragungsversuche mit *Rhopalosiphon padi* ergaben auf Gerste und Hafer Symptome, die vollständig mit den Originalbeschreibungen von Oswald und Houston (1951) übereinstimmten.

Die Virose wurde nachgewiesen 1. in Gebirgslagen auf Hafer im Sommer, 2. im Gewächshaus auf Weizen im Herbst.

Es wird vermutet, daß die Virose im schweizerischen Mittelland in den Sommermonaten weit verbreitet ist. Sie spielt wirtschaftlich keine Rolle, weil die Übertragung auf Getreidefelder zu spät erfolgt. Wegen Abwesenheit des Vektors werden auch die Wintersaaten im Herbst nicht befallen.

Summary

The occurence of Cereal Yellow Dwarf was experimentally proved for the first time in Switzerland. The symptoms produced by virus-carrying aphids (*Rhopalosiphon padi*) on barley and oat are identical with those described by Oswald and Houston 1951.

The disease was found 1. in a mountain valley (3600ft) on oat in summer, 2. in a greenhouse on wheat in fall.

It can be assumed that the disease is widespread throughout the cereal growing region in Switzerland late in summer. It causes no damage because the infection of cereals occurs too late. Winterwheat escapes infection in fall as the vector in no longer present.

Literaturverzeichnis

Klinkowski, M., und G. Kreutzberg, 1958: Vorkommen und Verbreitung von Gramineenvirosen in Europa. Phytopath. Z. **32**, 1—24.

McGrath, H., et P. R. Miller, 1960: Les maladies des plantes aux Etats-Unies: faits nouveaux importants en 1959. Bul. phytosanitaire FAO **8**, 95—101.

Oswald, J. W., and B. R. Houston, 1951: A new virus disease of cereals, transmissible by aphids. Plant. dis. reptr. **35**, 471—475.

Rademacher, B., 1932: Die Weißährigkeit des Hafers, ihre verschiedenen Ursachen und Formen. Archiv Pfl.bau **8**, 456—526.

— —, und R. Schwarz, 1958: Die Rotblättrigkeit des Hafers — eine Viruskrankheit (*Hordeumvirus nanescens*). Z. Pfl.krankh. **65**, 641—650.

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Obstkrankheiten, Heidelberg

Über Hypertrophien an Pfirsichzweigen

Von

T. Glaser[1]) und A. Schmidle

Mit 5 Abbildungen

Coryneum beijerinckii Oud. (= *Clasterosporium carpophilum* [Lév.] Aderh.) verursacht an Blättern des Steinobstes die sogenannte Schrotschußkrankheit. Auch auf Kelch- und Blütenblättern, an Früchten, Trieben und Zweigen ruft der Pilz braune Flecke und Nekrosen hervor (Naef-Roth 1949, Sorauer 1928). An Pfirsichzweigen treten in Polen und Deutschland Hypertrophien auf, deren Ursache gleichfalls *Coryneum beijerinckii* zu sein scheint. Da wir in der Literatur keine Hinweise auf dieses Krankheitsbild finden konnten, soll nachstehend darüber berichtet werden.

1. Krankheitsbild

An zwei- und mehrjährigen Pfirsichzweigen zeigen sich Hypertrophien von kugeliger oder unregelmäßig länglicher Form. Sie umfassen die Zweige zu etwa einem Viertel bis drei Viertel, jedoch niemals völlig. An einem Zweig sind oft ein bis mehrere solcher Gebilde vorhanden. An dünneren Zweigen können sie einen Durchmesser von 5 mm, an Ästen bis zu einigen Zentimetern haben (Abb. 1 a, b) und an dicken Ästen sogar Faustgröße erreichen. Ihre Oberfläche ist runzelig, manchmal rissig und braungrün bis braunschwarz verfärbt. Oft sind sie stark von Gummi überkrustet, auf dem sich Schwärzepilze angesiedelt haben. Schneidet man diese Wucherungen auf, so findet man in ihrem Innern, an der Grenze des letzten Jahresringes, abgestorbenes Rindengewebe und Gummisubstanz. Auf das tote Rindengewebe folgt nach außen Wundholz von unregelmäßiger Struktur, das kleinere Einschlüsse von totem Rindengewebe enthält. Außen ist das Wundholz von der im Innern noch grünen, unregelmäßig dicken und oft zerklüfteten Rinde überzogen (Abb. 2).

Die hier beschriebenen Hypertrophien werden vorläufig, bis sie histologisch näher untersucht sind, als Gallen bezeichnet[2]) (Küster 1916, Gäumann 1951).

[1]) Adjunkt der Landwirtschaftlichen Hochschule in Posen; zur Zeit Stipendiat der Rockefeller Foundation.

[2]) Nach Stanová (1957) werden bei der Aprikose durch *Coryneum beijerinckii* anscheinend ähnliche Symptome hervorgerufen.

In Polen wurden diese Gallbildungen im Kreis Wolsztyn an zwei- bis zehnjährigen Pfirsichsämlingen der Lokalsorte „Rakoniewicka" beobachtet. In Deutschland wurden sie gefunden in einer Pfirsichanlage bei Wittlich (Rheinland-Pfalz) an Zweigen 12- bis 13jähriger Pfirsichbäume der Sorten Kernechter vom Vorgebirge, Roter Ellerstädter und Rekord aus Alfter, sowie an einem Pfirsichsämling auf dem Versuchsfeld des Instituts in Heidelberg. Über den Schaden, den diese Gallen verursachen, kann Endgültiges noch nicht gesagt werden. In Polen scheint der Anbau der Lokalsorte „Rakoniewicka" infolge dieser Schäden in Frage gestellt zu sein. In Deutschland war ein stärkeres Vorkommen bisher nur örtlich zu beobachten.

Abb. 1 a, b. Hypertrophien an dreijährigen Pfirsichzweigen zwölfjähriger Bäume der Sorte Roter Ellerstädter

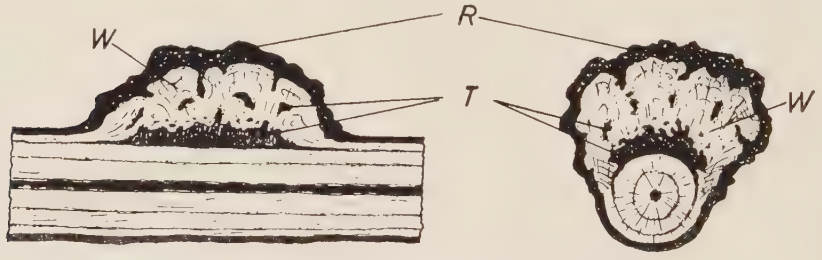

Abb. 2. Wie Abbildung 1, Längs- und Querschnitt.
R = lebendes Rindengewebe, T = totes Rindengewebe, W = Wundholz

2. Krankheitserreger

Aus den Gallen wurden vornehmlich *Coryneum beijerinckii* (25 %), *Cytospora* spp. und einige andere Pilzarten, sowie Bakterien isoliert. *Cytospora*-Arten konnten als Ursache dieser Gallen ausgeschlossen werden, da seit längerer Zeit mit solchen Arten durchgeführte Impfversuche nur zu Rindenfäulen und niemals zu derartigen Wucherungen führten. Impfungen mit den Bakterien blieben ebenfalls erfolglos. Dagegen wurden bei den Versuchen mit *Coryneum beijerinckii*, über die nachstehend berichtet wird, ähnliche Gallen erzielt.

Tabelle 1

Konidiengröße der drei untersuchten Herkünfte des Pilzes *Coryneum beijerinckii* (Lév.) Aderh. auf Kartoffelsaftagar
Anzahl der Messungen: 50

Herkunft	Zahl der Zellen	Größe der Konidien in μ	
I (Galle)	1	21,0 — 29,4 × 10,5 — 12,6	21,0 — 50,4 × 10,5 — 16,8
	2	21,0 — 29,4 × 10,5 — 12,6	
	3	29,4 — 35,7 × 12,6 — 14,7	
	4	33,6 — 50,4 × 12,6 — 16,8	
	5	33,6 — 46,2 × 12,6 — 14,7	
	6	42,0 — 50,4 × 12,6 — 16,8	
II (Galle)	1	21,0 — 29,4 × 10,5 — 12,6	21,0 — 54,6 × 10,5 — 16,8
	2	23,1 — 29,4 × 10,4 — 14,7	
	3	25,2 — 33,6 × 10,5 — 14,7	
	4	33,6 — 50,4 × 12,6 — 14,7	
	5	37,8 — 54,6 × 12,6 — 16,8	
	6	42,0 — 54,6 × 12,6 — 16,8	
III (Rinden-nekrose)	1	25,2 — 33,6 × 10,5 — 12,6	25,2 — 54,6 × 10,5 — 18,9
	2	25,2 — 33,6 × 12,6 — 16,8	
	3	29,4 — 33,6 × 12,6 — 16,8	
	4	33,6 — 42,0 × 12,6 — 18,9	
	5	37,8 — 46,0 × 14,7 — 16,8	
	6	42,0 — 54,6 × 12,6 — 16,8	

Zur Charakterisierung des von uns isolierten und als *Coryneum beijerinckii* bestimmten Pilzes machen wir folgende Angaben:

Die Konidien werden auf kurzen Konidienträgern gebildet. Sie sind auf Kartoffelsaftagar nach sechs bis acht Tagen ein- bis sechszellig, sehr selten siebenzellig und olivbraun gefärbt. Die gemessenen Größen stimmen im wesentlichen mit den Angaben von Lindau (1922), Kirchner (1923), Sorauer (1928) und Andersen (1956) überein, weichen aber teilweise ab von den Sporengrößen, die Naef-Roth (1949) angibt (Tab. 2).

Tabelle 2

Angaben über Konidiengrößen in der Literatur

Autor	Konidiengröße μ	Mittel μ
Beijerinck (1883)*)	28 — 32 × 11 — 13	—
Saccardo (1886)*)	54 × 14	—
Aderhold (1902)	23 — 62 × 12 — 18	40 × 14
Lindau (1922)	23 — 62 × 12 — 18	—
Kirchner (1923)	23 — 62 × 12 — 18	—
Sorauer (1928)	23 — 62 × 12 — 18	40 × 14
Naef-Roth (1949)		
a) großsporige Formen	25 — 39 × 12 — 15	—
b) kleinsporige Formen	11 — 16 × 4,5— 8	8

*) Nach Naef-Roth (1949).

3. Infektionsversuche mit *C. beijerinckii*

Für die Infektionsversuche wurden Einsporkulturen von drei verschiedenen Herkünften verwendet; davon waren zwei aus Gallen und eine Herkunft aus einer Nekrose eines Pfirsichzweiges isoliert worden.

a) Impfungen an Pfirsichblättern

Um zu zeigen, daß das aus Gallen isolierte *Coryneum* die „Schrotschußkrankheit" hervorrufen kann, wurden Impfungen an Blättern vierjähriger Pfirsichbäume im Freiland und an zweijährigen Sämlingen im Gewächshaus durchgeführt. Mit je einer Herkunft wurden die Blätter von vier Triebspitzen, ohne sie zu verletzen, am 8. Juli 1960 mit einer Sporenaufschwemmung besprüht. Um den Sporen die Keimung zu ermöglichen, blieben die Triebe eine Woche lang in Plastikbeutel eingehüllt. Nach Entfernen derselben waren auf den Blättern rundliche, braune Flecke mit hellrotem Rand vorhanden. Auf allen Flekken konnten Konidien von *C. beijerinckii* nachgewiesen werden. Nach etwa drei Tagen fiel das vom Pilz zerstörte Gewebe aus und es zeigten sich die typischen „Schrotschußsymptome" (Abb. 3). Damit ist der Beweis erbracht, daß der aus den Zweiggallen isolierte und als *C. beijerinckii* bestimmte Pilz den „Schrotschußeffekt" an Pfirsichblättern hervorrufen kann.

Abb. 3. Pfirsichblätter mit Schrotschußsymptomen. Impfung erfolgte mit einer *Coryneum*-Herkunft, die aus Zweiggallen vom Pfirsich isoliert wurde

b) Impfungen an diesjährigen Trieben

Die Impfungen wurden durchgeführt am 25. Juni 1960 an diesjährigen Trieben zweijähriger Pfirsichsämlinge, die in Tontöpfen im Gewächshaus standen. Hierzu wurde die Rinde der Zweige keilförmig eingeschnitten und in die Wunde ein von Myzel überwachsenes Agarstück von 4 mm Durchmesser eingeschoben. Ein Verband aus feuchter Watte und Kunststoffolie verblieb acht Tage auf der Impfstelle. Beimpft wurden mit jeder Pilzherkunft drei Triebe, zusammen also neun. Weitere neun Wunden wurden als Kontrollen nicht beimpft.

Innerhalb einer Woche bildeten sich auf der Rinde der beimpften Zweige braune Nekrosen von 7 bis 12 mm Länge, welche die Zweige zu einem Viertel bis etwa zur Hälfte umfaßten. Die Nekrosen vergrößerten sich in den folgen-

den Tagen nur noch wenig, doch trat Gummifluß auf. Etwa drei Wochen nach der Impfung setzte von den Wundrändern her starke Kallusbildung ein, die bis Ende September 1960 bei allen beimpften Zweigen zum Verschluß der Wunde unter Bildung von hypertrophischem Gewebe (Abb. 4 a, b) führte. Reisolationen des Pilzes waren erfolgreich. Abbildung 5 zeigt die Reaktion eines Zweiges auf einen Einschnitt ohne Beimpfung.

Die einzelnen Pilzherkünfte zeigten unterschiedliche Virulenz. Die größten Gallen verursachte die *Coryneum*-Herkunft, die aus einer Rindennekrose eines Pfirsichzweiges stammte.

Abb. 4. Gallenbildung auf einem diesjährigen Trieb eines Pfirsichsämlings. Sieben Wochen nach der Impfung. a) Aufsicht, b) Längsschnitt

Abb. 5. Reaktion des Zweiges auf Einschnitt ohne Beimpfung

c) Impfungen an zweijährigen Stämmchen

Am 25. Juni 1960 wurden zweijährige Stämmchen von Pfirsichsämlingen beimpft, die in Tontöpfen im Gewächshaus standen. Die Impfungen erfolgten in derselben Weise, wie sie unter b) beschrieben ist. Nach 14 Tagen konnten auch hier örtlich begrenzte Nekrosen von 0,5 bis 1,5 cm Länge festgestellt werden, die Gummifluß zeigten. Drei bis vier Wochen nach der Impfung setzte von den Wundrändern her die Bildung von wucherndem Kallus ein. Der Wundverschluß ging jedoch langsamer vor sich als an den diesjährigen Trieben. So waren bis Ende September 1960 nur drei Impfstellen verschlossen, auch waren die Wucherungen kleiner. Somit ist festzustellen, daß die Reaktion bei den zweijährigen Stämmchen nicht so heftig ist wie bei den diesjährigen Trieben.

Zusammenfassung

An Pfirsichzweigen wurden in Polen und Deutschland Hypertrophien beobachtet, die vorläufig, solange eine genauere histologische Untersuchung noch aussteht, als Gallen bezeichnet werden. Aus den Gallen wurden vornehmlich *Coryneum beijerinckii* Oud. (25%), *Cytospora* spp. und einige andere Pilzarten sowie Bakterien isoliert. Infektionsversuche zeigten, daß als Ursache oder wenigstens als auslösender Faktor dieser Hypertrophien *Coryneum beijerinckii* Oud. in Betracht kommt.

Summary

Hypertrophies on peach shoots

Hypertrophies were observed on peach shoots in Poland and Germany which, so long as no detailed histological investigation has been carried out, are referred to as galls. *Coryneum beijerinckii* Oud. (25%), *Cytospora* spp. and certain other fungal species and also bacteria were the chief organisms isolated from the galls. Infection tests showed that *Coryneum beijerinckii* Oud. is concerned in the hypertrophies either as a cause or at least as a factor contributing to their formation.

Literaturverzeichnis

Aderhold, R., 1902: Über *Clasterosporium carpophilum* (Lév.) Aderh. und die Beziehungen desselben zum Gummifluß des Steinobstes. Arb. Biol. Reichsanst. **2**, 515—559.

Anderson, H. W., 1956: Diseases of fruit crops. New York, Toronto, London.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl., Basel.

Kirchner, O., 1923: Die Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. 3. Aufl., Stuttgart.

Küster, E., 1916: Pathologische Pflanzenanatomie. 2. Aufl., Jena.

Lindau, G., 1922: Die mikroskopischen Pilze. Kryptogamenflora für Anfänger. 2. Aufl., Berlin.

Naef-Roth, St., 1949: Untersuchungen über den Erreger der Schrotschußkrankheit des Steinobstes, *Clasterosporium carpophilum* (Lév.) Aderh., und über den Schrotschußeffekt. Phytopath. Z. **15**, 1—39 (hier weitere Literatur).

Sorauer, P., 1928: Handbuch der Pflanzenkrankheiten II, 1, 5. Aufl., Berlin.

Stanová, Mária, 1957: Prispevok k symptomatike huby *Clasterosporium carpophilum* Lév. (Aderh.) na Marhuli. Biologia **12**, 618—621.

Aus dem Institut für allgemeine Botanik
der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Direktor: Prof. Dr. Hans Wartenberg

Das Überdauern und der Saprophytismus des Wurzeltöters *Rhizoctonia solani* K. im Boden

Von

W. Herzog

Inhalt: 1. Einleitung. — 2. Untersuchungen über die Rhizosphärenwirkung von Kulturpflanzen und Unkräutern auf das saprophytische Leben von *Rhizoctonia solani*. a) Allgemeines; b) Material und Methode; c) Versuche über das Vorkommen und das Wachstum des Pilzes *Rhizoctonia solani* in Böden, die ohne und mit Impfung unkrautfrei gehalten wurden, sowie ohne und mit Impfung Unkrautbewuchs hatten; d) Versuche, das saprophytische Leben von *Rhizoctonia solani* in den Rhizosphären nichtanfälliger Getreidearten und Unkräuter zu fördern; e) Versuche, das saprophytische Leben von *Rhizoctonia solani* durch Bepflanzen des Bodens mit anfälligen Leguminosen und Hackfrüchten zu fördern. — 3. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Summary. — Literaturverzeichnis.

1. EINLEITUNG

Aus einem Briefwechsel zwischen Leveille und Simonet du Bouchet, den Leveille 1843 bekanntgab, geht hervor, daß schon diese Forscher den „Wurzeltöter" *Rhizoctonia solani* als Krankheitserreger der Kartoffelpflanze erkannt haben. Simonet berichtete 1826 an Leveille, daß er 1803 und 1807 an Kartoffelpflanzen Sklerotien eines Pilzes gefunden habe, der die Stauden stark schädige. Dies war, soweit bisher etwas bekannt wurde, die Erstentdeckung der Krankheit.

Im Jahre 1815 stellte de Candolle die Gattung *Rhizoctonia* auf. Er wählte den Namen nach dem charakteristischen Krankheitsbild der Wirte im parasitischen Leben der Pilzgattung, dem Abtöten der Wurzeln. Julius Kühn gab dann 1859 dem Pilz, in der Annahme, daß er noch nicht beschrieben sei, den Namen *Rhizoctonia solani* Kühn. Kühns eingehende Beschreibungen (1859 und 1889) lenkten die Aufmerksamkeit der Fachwelt auf die Bedeutung dieses Pilzes und auf die Wurzeltöterpilze überhaupt, was uns berechtigt, seine Namensgebung zu respektieren.

Relativ spät erst setzte das Bearbeiten der Physiologie des Pilzes ein. Zwar wurden vielfach Hinweise auf Entwicklungsvorgänge in Abhängigkeit

von äußeren und inneren Faktoren in Reinkulturen gegeben, aber ernsthafte Versuche zum Studium der parasitischen Stoffwechselvorgänge und karyologischen Verhältnisse bei *R. solani* nahmen erst Matsumoto (1921, 1924), K. O. Müller (1924) und Braun (1930) in Angriff. Braun gab gleichzeitig einen guten historischen Überblick über die Erforschung des Pilzes bis zu diesem Zeitpunkt.

Richter und Schneider (1950) untersuchten dann das Wachstum des Pilzes in der Wirtspflanze, Hofferbert und Orth (1951) die Fähigkeit des Pilzes, mit Zellulasen und Pektinasen auf das Substrat wirken zu können, was Huber (1956) bestätigen konnte. Seitdem wissen wir, daß der Pilz mit Stoffwechselprodukten (Hydrolyseprodukten) in der Nähe der Befallsstelle die Gefäße der Wirtspflanze verstopft. Obgleich eine charakteristische Symptomgruppe der Wirtspflanze, die Wipfelchlorose und das Wipfelrollen der Kartoffelstaude sowie das irreversible Welken und nekrotische Verdorren der Blätter, darauf hinweist, kann der Pilz nicht ferntoxisch wirken, denn er produziert keine Welketoxine. Wahrscheinlich prädisponiert er ebenso wie die *Erwinia*-Infektion (Meyer von Gregory und Wartenberg 1958) das toxische Wirken einer parallelen *Colletotrichum*-Infektion (Wartenberg, pers. Mitteilung).

Mit mehr Beachtung suchte man frühzeitig die Bedingungen, die das Auftreten der Krankheit beherrschen, besonders suchte man die Infektionsquelle zu finden. Schon Kühn (1889) meinte, daß *R. solani* ein weitverbreiteter Bodenbewohner sei, der gewöhnlich saprophytisch lebe und nur unter bestimmten Voraussetzungen pathogen werden könne. Auch Frank schrieb 1898, daß es wohl kaum einen Kartoffelacker in Deutschland gäbe, der nicht mehr oder weniger mit *R. solani* verseucht sei. Aber erst bei Sandford (1941, 1952), Blair (1943) und Winter (1950) findet man eingehendere Untersuchungen über das Verhalten des Wurzeltöters im natürlichen Boden beschrieben. Die Ansichten dieser und früherer Autoren über Bodensaprophytismus und Parasitismus des Pilzes sowie die Rolle, die die Antibiose im Boden als dritter eingreifender Faktor spielt, gehen weit auseinander. Auch die angeführten Ergebnisse bezüglich des Beharrungs- und Überdauerungsvermögen des Pilzes im Boden, sind nicht gleichlautend. Einen ausführlichen historischen Überblick zu diesen Streitfragen haben wir in einer ersten Studie über die Lebensdauer der Sklerotien von *R. solani* im Boden (Herzog und Wartenberg 1958) vorangestellt.

In der gleichen Arbeit konnten wir experimentell beweisen, daß der Wurzeltöter der Kartoffel im Boden saprophytisch leben, wachsen und Sklerotien bilden kann. Er wird dabei durch Antibionten behindert. Als neue Erkenntnis kam aus den Ergebnissen unserer Versuche hinzu, daß verwesende Pflanzenteile, wie Kraut- und Knollenreste der Kartoffelpflanze, also des Wirtes, den der Pilz ehemals parasitär bewohnte, nicht das Wachstum des Pilzes begünstigen können, da sie ein vorzügliches Substrat fungistatisch wirkender Antibionten sind. Diese Antibionten verhindern das Auswachsen der Sklerotien von *R. solani* zu Myzel und konservieren sogar diese Überdauerungsorgane des Pilzes. Tötet man die Antibionten an den Sklerotien,

dann keimen die gut ausgebildeten Sklerotien noch nach 5 Jahren und ergeben ein gutes Myzel. Wir konnten also den Schluß ziehen, daß die Sklerotien erst nach dem Verwesen der Reste der parasitär bewohnten Kartoffelpflanze auskeimen und als Myzel zum saprophytären Leben übergehen können, das aber stets behindert sein wird, soweit es nicht durch Rhizosphärenwirkung begünstigt wird. Es tauchte in der weiteren Entwicklung des Themas die Frage auf, ob *R. solani* für sein Leben und Wachstum im Boden auf eine unmittelbare Verbindung des Myzels mit der Wirtspflanze angewiesen ist oder ob sein Dasein in einer Wirkungssphäre der Wurzel dem Pilz schon für ein gewisses unabhängiges Saprophytenleben ausreicht.

Die Problemstellung der vorliegenden Abhandlung resultiert aus dem, was bereits dargestellt wurde: Es handelt sich darum, die recht undurchsichtigen Verhältnisse des antibiotisch behinderten und symbiotisch geförderten Saprophytendaseins des Pilzes *R. solani* zu analysieren. Meine experimentellen Arbeiten bekamen für mich Sinn und Richtung, als ich bei den Untersuchungen des Überdauerns der Sklerotien (vgl. auch Herzog und Wartenberg 1960) zu Vorstellungen über Wesenszüge der Mikrobenantibiose kam, die als Konservierungseffekte neu waren. Hierbei lernte ich die Antibiose nicht nur als störende und lebenswidrige Hemmung des Partners, sondern auch als ökologisch fördernden Faktor zu beurteilen. Die Arbeit führte dann weiter zu Untersuchungen über das Verhalten der Sklerotien in der Rhizosphäre von Kulturpflanzen und Unkräutern und schließlich zu den Problemen des Saprophytendaseins von *R. solani* unter Rhizosphärenwirkung.

2. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE RHIZOSPHÄRENWIRKUNG VON KULTURPFLANZEN UND UNKRÄUTERN AUF DAS SAPROPHYTISCHE LEBEN VON *RHIZOCTONIA SOLANI*

a) Allgemeines

Das Ergebnis früherer Versuche (Herzog und Wartenberg 1958), wonach *R. solani* in der Rhizosphäre der Kartoffelstaude und im Wurzelbereich einiger Unkräuter gefördert wird, wirft die Frage auf, ob auch andere Kulturpflanzen, wie sie im Fruchtwechsel aufeinanderfolgen, mit ihren Rhizosphären die saprophytische Vermehrung des Wurzeltöters fördern. Zugleich muß beachtet werden, wie die spezifischen Unkräuter der Kulturarten dabei wirken.

Mit dieser zweiten Frage stößt man auf eine unüberwindbare Schwierigkeit. Beim Anbau der Kulturpflanzen in der Fruchtfolge eines Ackers finden sich mit der Zeit die spezifischen Unkräuter ein, während die unspezifischen bald verschwinden. Wie das zustande kommt, ist größtenteils noch ungeklärt. Bei der Anzucht von Kulturpflanzen in großen Blumentöpfen — dazu noch in verschiedenen Böden — treten die spezifischen Unkräuter jedenfalls nicht auf. Der Boden bringt zunächst teils eigene, teils zufällige Florenelemente hervor. Hinzugebrachte Samen und sonstige Vermehrungsorgane müssen sich scheinbar erst mit den bodeneigenen und den zufälligen Florenelementen

auseinandersetzen. Ich kann deshalb bei der Beschreibung dieser Versuche nicht von einer spezifischen Unkrautflora sondern nur von Unkräutern schlechthin sprechen, wobei Pflanzen gemeint sind, die ohne oder mit meinem Zutun als Begleiter der Kulturpflanzen oder allein in den Töpfen gewachsen sind.

Ein weitere Schwierigkeit ergab sich aus der Frage nach dem Vergleichsmaßstab. Das Nächstliegende wäre, das Verhalten des Pilzes in einem Boden, der frei von Kulturpflanzen und von Unkräutern, also unbewachsen ist, als Vergleichsmaßstab zu benutzen. Aber verschiedene Böden können ja den Pilz, den wir als saprophytären Bodenbewohner annehmen müssen, in verschiedener Menge enthalten. Demgemäß müßten die Versuche nicht nur mit mehreren Arten von Versuchspflanzen sondern auch mit einer größeren Anzahl von Bodentypen angestellt werden, was dem Ganzen einen Umfang geben würde, der weder technisch zu bewältigen noch sorgfältig zu überwachen wäre. Ich mußte deshalb das Problem „Vergleichsmaßstab" in der einfachsten Weise zu lösen versuchen und wählte drei Böden, die den Pilz natürlicherweise nicht enthielten. Sie dienten o h n e Bewuchs — sozusagen als Nullparzelle — und m i t den verschiedenen Bewuchstypen als Varianten des Versuches. Selbstverständlich mußte bei dieser Versuchsanstellung der Boden jedes Blumentopfes aller Versuchsfraktionen nachweisbar wirksam mit *R. solani* geimpft werden.

Obgleich ich das Auswerten der Versuche nach der Variation der Bodentypen vermeiden mußte, konnte ich nicht umhin, mit wenigstens einigen extrem verschiedenen Böden zu arbeiten. Daß sie *R. solani* nicht enthielten, konnte verschiedene Gründe haben. Vielleicht waren wenigstens andeutungsweise Hinweise zu gewinnen, daß ein Boden den Pilz nicht enthielt, weil er als Substrat ungeeignet war, und daß er in einem anderen nicht gefunden werden konnte, weil eine starke Antibiose sein Aufkommen unterdrückt hatte. Über solche Hinweise hinausreichende Ergebnisse konnte ich von meinen Untersuchungen nicht erwarten. Sie können erst mit Forschungen gewonnen werden, denen sich vielleicht künftig einmal ein Bearbeiter speziell widmen darf.

b) Material und Methode

Es ist bekannt, daß gewisse Eignungen des Bodens als saprophytisches Substrat eine fördernde Wirkung auf *R. solani* haben. Aus diesem Grunde sind bei den nachfolgend beschriebenen Versuchen folgende drei extrem verschiedenen Bodentypen verwendet worden:

Waldboden: aus einem Kiefernbestand, reich an Rohhumus, nährstoffarm, pH 6,3.
Komposterde: aus dem Botanischen Garten Jena, reich an Feinhumus, nährstoffreich, pH 7,6.
Auelehm: aus der Saaleaue bei Jena, humusarm und nicht nährstoffarm, pH 7,3.

Um sicher zu gehen, daß die Versuchsböden wirklich *Rhizoctonia*-frei waren, habe ich mehrmals versucht, den Pilz aus den Böden zu isolieren. Mit Methoden, die bei *Rhizoctonia*-infizierten Böden immer zum Erfolg führten, fielen die Untersuchungen der drei Versuchsböden im Urzustande stets negativ aus.

Es erschien zunächst nachteilig zu sein, daß die drei Böden nicht sehr unterschiedlich in der Azidität waren. Aus einer Arbeit von Blair (1943) über das Verhalten des Pilzes im natürlichen Boden wissen wir, und in eigenen Versuchen fand ich bestätigt, daß *R. solani* im Bereich von pH 5,8 bis pH 8,0 fast gleich gut wächst. Das Optimum für Myzelwachstum und Sklerotienbildung liegt bei neutraler Bodenreaktion; aber noch bei pH 3,3 und pH 8,9[1]) ist ein, wenn auch wesentlich geringeres, Wachstum zu beobachten. Daraus kann man folgern, daß die Bodenreaktion keinen Einfluß hat, der das Ergebnis ändern kann. Das ist wichtig für den späteren Vergleich der Ergebnisse aus den verschiedenen Böden, also für eine Aussage über deren Eignung als saprophytisches Substrat. Die Frage, ob voneinander abweichende Ergebnisse in verschiedenen Böden auf deren unterschiedlichen Nährstoff- und Humusgehalt zurückzuführen sind, kann nur dann eindeutig beantwortet werden, wenn gesichert ist, daß diese Abweichungen nicht auf Unterschiede in der Azidität der verwendeten Böden zurückgeführt werden müssen.

Die Versuche über die Förderung des saprophytischen Lebens von *R. solani* in der Rhizosphäre von Kulturpflanzen, sind mit nachfolgend aufgeführten Nichtwirts- und Wirtspflanzen durchgeführt worden:

Erste Versuchsserie (Nichtwirtspflanzen)

Gramineae:

Triticum aestivum L.: Sommerweizen der Sorte „Koga";
Secale cereale L.: Sommerroggen der Sorte „Petkuser";
Hordeum distichon L.: Sommergerste der Sorte „Morgenrot";
Avena sativa L.: Hafer der Sorte „Flämingsgold";
Zea mays L.: Mais der Sorte „Schindelmeiser".

Zweite Versuchsserie (Wirtspflanzen)

Chenopodiaceae:

Beta vulgaris L.: Futterrüben der Sorte „Altenburger Tonnen";
Beta vulgaris L. var. *altissima:* Zuckerrüben der Sorte „Kleinwanzlebener N".

Leguminosae:

Vicia faba L.: Ackerbohnen der Sorte „Friedrichswerther Berg";
Phaseolus vulgaris L.: Gartenbohnen der Sorte „Quedlinburger Frühe";
Pisum sativum L.: Erbsen der Sorte „Salzmünder Edelperle".

Solanaceae:

Solanum lycopersicum L.: Tomaten der Sorte „Lukullus";
Solanum tuberosum L.: Kartoffeln der Sorte „Ackersegen".

Saatgut und Pflanzgut stammten aus der Bäuerlichen Handelsgenossenschaft Camburg und dem Raiffeisenlager Schleiz.

Ende Mai bis Anfang Juni 1958 wurden mit jedem der drei Bodentypen eine größere Anzahl Blumentöpfe (etwa 22 cm ⌀) gefüllt. Den zwölf zum Versuch genommenen Pflanzenarten sind jeweils zwölf Töpfe jeder Bodenart zugeordnet worden.

Die Aussaat bzw. das Auspflanzen erfolgte in der üblichen Art und Weise.

[1]) Es wird sich um den Wert pH 8,5 handeln, die mögliche maximale basische Reaktion von Nährlösungen und Nährböden, auf die stärker basisch angesetzte Kulturen durch Bikarbonatbildungen schnell zurückgehen.

Am Tage der Bestellung legte ich in die Erde jedes Versuchsgefäßes ein Impfstück, bestehend aus einem 3 cm^2 großen Stück Agar, das von *R. solani* durchwachsen war und auch Sklerotien enthielt. Ich legte die Impfstücke in die Mitte der Töpfe und so tief, daß sich in den Böden möglichst schnell eine geschlossene Myzeldecke bildete und die auswachsenden Sämlinge und Keime durch die Myzeldecke hindurchzuwachsen gezwungen waren. Für die anfälligen Pflanzen wurde so ein Höchstmaß an Infektionswahrscheinlichkeit erreicht.

Die Versuche setzte ich ziemlich spät im Jahre an, weil hierdurch die Garantie gegeben war, daß die aus dem Impfstück auswachsenden Myzelien nicht durch Nachtfröste zerstört und nicht durch eine längere kühle Witterungsperiode im Wachstum beeinträchtigt werden konnten.

Die Witterungsbedingungen waren (Tagestemperaturen um 20 bis 25 °C und Nachttemperaturen zwischen 10 und 15 °C bei mäßiger Bodenfeuchtigkeit) für das Auswachsen der Sklerotien günstig. Deshalb blieb das Impfstück nur vier Tage im Boden. Nach vier Tagen war der Pilz in den Boden hineingewachsen, konnte darin aber noch keine Sklerotien gebildet haben. Alle später in den Böden vorgefundenen Hyphen und Sklerotien mußten sich also vom Impfstück aus, mit Hilfe der in der Erde oder in der Rhizosphäre höherer Pflanzen vorhandenen Nährstoffe, saprophytisch entwickelt haben.

Herausnehmen und Entfernen der Impfstücke war notwendig, weil die Sklerotien, die am Ende des Versuches herausgesucht werden sollten, nicht aus den eingebrachten Impfstücken stammen durften. Im Agarimpfstück saßen die Sklerotien so fest, daß sie mit Sicherheit nicht im Boden zurückbleiben konnten. Es mußte nur darauf geachtet werden, daß mit dem Impfstück nicht auch die von ihm aus in den Boden gewachsenen Hyphen entnommen wurden. Die Hyphen wurden deshalb rund um das Impfstück herum vor dessen Entnahme mit der Schere abgetrennt.

Nachdem die Erde in den Töpfen in der beschriebenen Weise beimpft und die Impfstücke unter Zurücklassen der ausgewachsenen Hyphen entfernt waren, wurden die Töpfe im Garten in einem Beet bis 3 cm unter ihren oberen Rand eingegraben, so daß sie normale Bodenfeuchtigkeit behielten, aber freie Bodenoberflächen hatten.

Zur Erleichterung der späteren Auswertung habe ich alle Böden vor dem Ansetzen der Versuche durch ein 2-mm-Maschennetz gesiebt. Dabei aus dem Boden herausgeholte Ausläufer von perennierenden Unkräutern wurden wieder in die Töpfe, die dem Unkrautbewuchs überlassen werden sollten, eingebracht. In einigen Fällen habe ich die Töpfe noch mit spezifischen Unkräutern bepflanzt, um den Kreis der zu untersuchenden Unkrautarten zu erweitern.

Da in der Hälfte der Töpfe neben den Unkräutern auch noch die anfälligen bzw. nicht anfälligen Kulturpflanzen wuchsen, konnte gleichzeitig untersucht werden, ob sich die Rhizosphären der Unkräuter einerseits und die der Kulturpflanzen andererseits in ihrer den Pilz fördernden Wirkung gegenseitig beeinflussen.

Wie schon gesagt wurde, war es im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, das Auffinden von Sklerotien in den Rhizosphären bestimmter Unkrautarten oder in den Rhizosphären von Unkräutern bestimmter Familien getrennt aufzuführen, da dies eine zu große Anzahl von Versuchsgefäßen erfordert hätte. Nehme ich das Ergebnis der mit Unkräutern gemachten Erfahrungen vorweg, dann muß ich sagen, daß in der fördernden Wirkung der Rhizosphären von Unkräutern gegenüber *R. solani* bei den verschiedenen Unkrautarten, selbst bei Herkunft aus verschiedenen Familien, nur mit geringen Unterschieden zu rechnen ist. Ein Zusammenfassen der Vergleiche ist nicht möglich, da die relativ geringe Anzahl Individuen der untersuchten einzelnen Arten, die zudem von verschiedenen Böden stammten und in den Töpfen noch zum Teil mit verschiedenen Kulturpflanzen zusammen wuchsen, keine statistische Sicherung der Ergebnisse ergeben hätte. Das Zusammenfassen erübrigt sich wohl auch in Anbetracht der Tatsache, daß die Unterschiede der Rhizosphärenwirkung verschiedener Unkräuter gering sind, und der zusätzlichen Feststellung, daß ich keine Unkrautpflanze finden konnte, die *R. solani* in ihrer Rhizosphäre nicht anreicherte. Keine der untersuchten Unkrautpflanzen hatte Beschädigungen durch den Pilz erlitten, sie haben sich alle als „Nichtwirtspflanzen" des Pilzes erwiesen. Allerdings ist eine solche Bezeichnung vielleicht nur bedingt richtig, da Braun (1930) einige der Unkräuter (*Rumex acetosella* L., *Stellaria media* (L.) Vill., *Convolvulus arvensis* L. u. a. zu den Wirtspflanzen von *R. solani* stellt. Auch Peltier (1916) und Oakley (1924) schrieben, ohne nähere Angaben zu machen, daß der Pilz einige Unkräuter befallen kann.

Ich habe in meinen Versuchen die Rhizosphärenwirkung folgender Unkräuter, die nachstehend nach Familien geordnet aufgeführt werden, beobachtet:

Caryophyllaceae: **Stellaria media* (L.) Vill.
Compositae: Anthemis arvensis L., **Crisium arvense* (L.) Scop., **Hieracium pilosella* L., **Senecio vulgaris* L., **Taraxacum officinale* Web., **Tussilago farfara* L.
Convolvulaceae: **Convolvulus arvensis* L.
Cruciferae: **Capsella bursa pastoris* (L.) Med., **Thlaspi arvense* L.
Euphorbiaceae: **Euphorbia cyparissias* L.
Gramineae: **Agropyron repens* (L.) P. B.
Labiatae: Lamium purpureum L., **Mentha arvensis* L., *Stachys palustris* L.
Liliaceae: Gagea arvensis Dum., *Ornithogalum umbellatum* L.
Leguminosae: Lathyrus tuberosus L., *Vicia cracca* L.
Plantaginaceae: Plantago major L., *P. lanceolata* L.
Polygonaceae: Rumex acetosa L., *R. acetosella* L.
Ranunculaceae: Ranunculus acer L., *R. repens* L.
Rosaceae: **Potentilla anserina* L., *P. reptans* L.

(Die mit * versehenen Arten traten besonders häufig auf. Die restlichen Arten waren im Zusammenhang mit jeder der zwölf untersuchten Kulturpflanzen nur vereinzelt zu finden.)

Als Kontrolle zu den Versuchsserien mit Kulturpflanzen und Unkräutern habe ich je drei weitere Töpfe jeden Bodentyps, die nicht beimpft wurden, mit jeder Versuchspflanze bepflanzt. Mit diesem Kontrollansatz sollte untersucht werden, ob das verwendete Saat- und Pflanzgut wirklich frei von

R. solani und nicht etwa neben dem Impfstück eine weitere Quelle der Bodenverseuchung war.

12 weitere Töpfe jeder Bodenart wurden unbepflanzt und unbeimpft aufgestellt, um vor und nach der Überwinterung der Töpfe an Hand von Isolierungen untersuchen zu können, ob während der Versuchsdauer, etwa durch Sporenverwehung, etwas von dem Pilz in die Böden gelangt sei.

Für Vergleichszwecke ist noch eine dritte Versuchsserie angesetzt worden. Hierfür wurden je 12 Töpfe mit den gleichen 3 Versuchsböden wie bei den ersten Auswertungen gefüllt, in der beschriebenen Weise beimpft, aber unbepflanzt gelassen. Die eine Hälfte dieser Versuchsserie, also 6 Töpfe je Bodenart, wurde unkrautfrei gehalten. Ihre Auswertung sollte die Frage klären, inwieweit die verwendeten Böden für den Pilz ohne Förderung durch Kultur- und Unkrautpflanzen als saprophytisches Substrat in Frage kommen. Sie sollte der Vergleichsmaßstab sein. Des weiteren sollte die Anzahl der hier je Bodenprobe als *R. solani* ermittelten Keimstellen mit der Anzahl *Rhizoctonia*-Keimstellen je Bodenprobe aus dem undurchwurzelten Bodenanteil mit Kultursorten bepflanzter aber unkrautfreier Töpfe verglichen werden. Der Vergleichsmaßstab mußte auch zeigen, wie weit sich eine pilzfördernde Wirkung der Nichtwirtspflanzen- und Wirtspflanzenrhizosphären auch auf den sie umgebenden undurchwurzelten Boden auswirkt.

Die andere Hälfte der Versuchsserie habe ich wieder dem natürlichen Unkrautbewuchs überlassen. Die hier zu erwartende Begünstigung des Pilzes in den Unkrautrhizosphären kann mit der in den Unkrautrhizosphären bepflanzter Töpfe der 1. und 2. Versuchsserie verglichen werden. Der Vergleich soll die Frage beantworten, ob sich Unterschiede in der Förderung des Pilzes in der Rhizosphäre von Unkräutern ergeben, wenn der Boden gleichzeitig mit anfälligen oder nichtanfälligen Kulturpflanzen bewachsen ist. Mit anderen Worten: es soll untersucht werden, ob die Förderung des Pilzes in der Unkrautrhizosphäre durch seine Förderung in der Rhizosphäre von gleichzeitig in diesen Töpfen wachsenden anfälligen und nichtanfälligen Kulturpflanzen beeinflußt wird.

Schließlich soll die Gegenüberstellung der Ergebnisse der ersten Hälfte dieser Versuchsserie mit denen aus undurchwurzelten Böden der zweiten Hälfte noch einmal auf anderem Wege zeigen, ob sich die pilzfördernde Wirkung der Unkrautrhizosphäre, gegenüber *R. solani*, auf diese beschränkt.

Nach dem Eingraben im Institutgarten waren wieder alle Töpfe bis zum Auswerten sich selbst überlassen. Nur Mitte Juli 1958 habe ich während einer längeren Trockenperiode zweimal mäßig gegossen. Das Pilzwachstum durfte durch die Trockenheit nicht zu sehr gehemmt werden.

Die Auswertung ist für alle 3 Versuchsserien in 2 Etappen, jeweils mit einer Hälfte der für jede Versuchsfraktion aufgestellten Gefäße, durchgeführt worden. Die erste Auswertung wurde von Anfang August bis Ende September 1958, also noch vor den ersten Bodenfrösten, erledigt, die zweite dagegen erst Ende Januar bis Anfang April 1959, nach mehreren starken Bodenfrösten. Bezüglich der Methode ergaben sich dabei einige Probleme. Mit der Methode von WARCUP (1955) ist der Pilz qualitativ nachzuweisen. Der

hier jedoch angestrebte quantitative Nachweis fordert weitere Voraussetzungen. Das quantitative Auswerten ist nur dann sinnfällig, wenn anzunehmen ist, daß ein aus einer Bodenprobe entnommener Klumpen, der im Agar eine *Rhizoctonia*-Kolonie entfaltet, einem Sklerotium entspricht. Nur in diesem Falle kann man das Vorkommen und das eigentliche Vermehren des Pilzes im Boden an Hand der Anzahl je Bodenprobe gefundener und auf Agar mit *Rhizoctonia*-Myzel auswachsenden Klumpen, d. h. Sklerotien ermessen. Die Unterschiede zwischen den absichtlich vor und nach dem Überwintern erledigten zwei Auswertungen zeigen das recht anschaulich (Seiten 389 u. 390).

Mit der Voraussetzung, die für die quantitative Aussage zu fordern ist, konnte ich nur beim zweiten Auswerten rechnen. Erst zu diesem Zeitpunkt waren nämlich schon so starke Bodenfröste aufgetreten, daß die gegen tiefere Temperaturen empfindlichen Hyphen des Pilzes zum größten Teil abgestorben sein mußten. Bei den Klumpen, die — auf Agar übertragen — *Rhizoctonia*-Kolonien bildeten, konnte es sich also nur noch um Sklerotien des Pilzes handeln.

Beim ersten Auswerten, das vor dem Einsetzen des Frostes erfolgte, war diese Voraussetzung nicht erfüllt. Die Keimstellenzahlen jeder Bodenprobe konnten einer Anzahl Sklerotien entsprechen, aber ebensogut von Hyphen oder Bruchstücken von Hyphen herrühren. Dadurch werden Ergebnisse vorgetäuscht, die nicht den eigentlichen Verhältnissen im Boden entsprechen. Oftmals war, im Gegensatz zur zweiten Auswertung, die Förderung des Pilzes im undurchwurzelten Boden der bepflanzten Töpfe scheinbar gleich groß oder etwas größer als in der Rhizosphäre der höheren Pflanzen. Auch die Anzahl der gefundenen Keimstellen war in jeder Versuchsfraktion größer als bei der entsprechenden in der zweiten Auswertung. Daraus wird deutlich, wie wichtig es bei solchen Versuchen ist, die Bedingungen einer quantitativen Auswertung zu erfüllen. Wenn das erste Auswerten trotzdem durchgeführt wurde, so deshalb, weil es schon wenige Monate nach dem Ansetzen der Versuche eine wenigstens annähernd richtige Aussage darüber erlaubte, ob der Pilz in der Rhizosphäre einer Pflanzenart gefördert wurde oder nicht. In den nachfolgenden Versuchsbeschreibungen werde ich aber nur die Ergebnisse der zweiten Auswertung näher besprechen.

Für das quantitative Auswerten wurde die Methode von Warcup (1955) in einer Weise modifiziert, die sich ähnlich schon bei früheren Versuchen zu diesem Thema (Herzog und Wartenberg 1958) als günstig erwiesen hatte: Es wurde zunächst jede Erdprobe in einer Drigalski-Schale durch Zugabe von Aqua dest. auf eine Bodenfeuchtigkeit von etwa 30 % der Wasserkapazität gebracht. Die so vorbereiteten Bodenschalen blieben dann 36 Std. bei Zimmertemperaturen zugedeckt stehen. Nachfolgend mehrmaliges Aufschwemmen des Bodens und Abgießen der überstehenden Aufschlämmung der Feinerde ließ die Sklerotien durch die auswachsenden und mit Boden behafteten Hyphen als sich absetzende Klumpen sichtbar werden. Einzeln auf sterile Petrischalen übertragen und mit Agar zugegossen, entwickelten sich aus ihnen charakteristische Pilzkolonien. Nach nochmals 24stündigem Aufbewahren wiederholte ich den ganzen Prozeß zur Kontrolle. Wuchsen die

Klumpen auch dann nicht aus, oder war infolge der auf den Platten auftretenden Fremdinfektionen der Nachweis nicht eindeutig, dann wurden diese Klumpen für eine Stunde in Hydramonlösung gebracht, mehrmals in Aqua dest. gespült und erneut auf sterile Petrischalen übertragen. Es ist dann Agar zugegossen und nach dem Auswachsen schließlich ausgewertet worden.

c) Versuche über das Vorkommen und das Wachstum des Pilzes *Rhizoctonia solani* in Böden, die ohne und mit Impfung unkrautfrei gehalten wurden, sowie ohne und mit Impfung Unkrautbewuchs hatten

Der Versuch sollte eine quantitative Aussage über die Eignung der Böden als saprophytisches Substrat unseres Pilzes ergeben. Sein Ergebnis ist, wie gesagt, der Vergleichsmaßstab, der den Förderungsversuchen zugrunde gelegt werden kann.

In der Parallele dazu erlauben die gleichen Böden, geimpft und ungeimpft, nur mit Unkräutern bewachsen und teils unkrautfrei, eine quantitative Aussage darüber, in welchem Maße die Unkräuter das Auswachsen von *R. solani* fördern. Bei der Beschreibung der Auswertung sollen die Ergebnisse nach dem Winterfrost, also der zweiten Auswertung, vorangestellt werden. Die Zahlen in den Tabellen 1 und 2 sind jeweils Mittelwerte der Anzahl *Rhizoctonia*-Sklerotien, die mit der Isolierungsmethode jeweils in den Bodenproben gefunden wurden, und zwar Mittelwerte aus 15 Bodenproben, die in Gruppen von fünf 10 ccm-Proben drei Töpfen entnommen worden sind. In Tabelle 2 ist die Reihe „mit Unkräutern bewachsen" in die zwei Reihen

Tabelle 1

Ergebnisse des Versuches, *Rhizoctonia solani* aus den nicht geimpften Böden zu isolieren

		Waldboden	Komposterde	Auelehm	
		$n\ \frac{M}{m}$	$n\ \frac{M}{m}$	$n\ \frac{M}{m}$	
Boden unbepflanzt, nicht geimpft	unkrautfrei	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	1. Auswertung
		$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	2. Auswertung
	mit Unkraut bewachsen	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	1. Auswertung
		$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	$15\ \frac{0}{\pm 0}$	2. Auswertung

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Tabelle 2

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Rhizosphäre von Unkräutern und im unbepflanzten Boden.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden $n \frac{M}{m}$	Komposterde $n \frac{M}{m}$	Auelehm $n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$
Boden unbepflanzt	unkrautfrei		$15 \frac{3{,}20}{\pm 0{,}27}$	$15 \frac{2{,}33}{\pm 0{,}29}$	$15 \frac{2{,}07}{\pm 0{,}27}$	$45 \frac{2{,}53}{\pm 0{,}18}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{2{,}87}{\pm 0{,}26}$	$15 \frac{2{,}60}{\pm 0{,}28}$	$15 \frac{1{,}67}{\pm 0{,}29}$	$45 \frac{2{,}38}{\pm 0{,}18}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{5{,}73}{\pm 0{,}31}$	$15 \frac{4{,}93}{\pm 0{,}32}$	$15 \frac{4{,}07}{\pm 0{,}26}$	$45 \frac{4{,}91}{\pm 0{,}20}$
			$45 \frac{3{,}93}{\pm 0{,}25}$	$45 \frac{3{,}29}{\pm 0{,}24}$	$45 \frac{2{,}60}{\pm 0{,}21}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

„außerhalb der Rhizosphäre" und „innerhalb der Rhizosphäre" unterteilt. Hierfür sind beim Auswerten den Töpfen mit geimpften und bewachsenen Böden jeweils 5 Proben außerhalb und innerhalb der Rhizosphären entnommen worden.

Die Isolierungsergebnisse des Versuches mit nichtgeimpften Böden, die in Tabelle 1 dargestellt sind, lassen erkennen, daß die Böden den Pilz natürlicherweise nicht enthielten. In zusammen $2 \times 90 = 180$ Isolierungsproben ist kein Sklerotium gefunden worden.

Der parallele Versuch mit geimpften Böden (Tab. 2), hat eindeutig bewiesen, daß die Böden als saprophytisches Substrat des Pilzes geeignet sind. Dasselbe grundsätzliche Ergebnis zeigte schon früher die erste Auswertung (Tab. 3).

Die Isolierungsergebnisse von Erdproben aus den unkrautfrei gehaltenen Töpfen (Tab. 2 und 3) lassen aber auch eine unterschiedliche Eignung der Böden als saprophytisches Substrat für den Pilz erkennen. Die Anzahl gefundener Sklerotien war in Auelehm am geringsten, in Komposterde schon sichtbar höher und in Waldboden am höchsten. Die für unbewachsene Böden relativ große Anzahl Sklerotien ist wohl so zu erklären, daß die Böden vor ihrer Verwendung gesiebt wurden. Sie konnten so keine größere Menge ver-

Tabelle 3

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Rhizosphäre von Unkräutern und im unbepflanzten Boden.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Hyphen und Sklerotien) ermessen, die in 10 ccm Erde gefunden wurden

I. Auswertung			Waldboden $n \frac{M}{m}$	Komposterde $n \frac{M}{m}$	Auelehm $n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$
Boden unbepflanzt	unkrautfrei		$15 \frac{3{,}73}{\pm 0{,}33}$	$15 \frac{4{,}13}{\pm 0{,}35}$	$15 \frac{2{,}73}{\pm 0{,}35}$	$45 \frac{3{,}53}{\pm 0{,}22}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{4{,}80}{\pm 0{,}36}$	$15 \frac{3{,}53}{\pm 0{,}32}$	$15 \frac{2{,}47}{\pm 0{,}31}$	$45 \frac{3{,}60}{\pm 0{,}24}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{5{,}87}{\pm 0{,}30}$	$15 \frac{6{,}27}{\pm 0{,}36}$	$15 \frac{4{,}53}{\pm 0{,}39}$	$45 \frac{5{,}56}{\pm 0{,}23}$
			$45 \frac{4{,}80}{\pm 0{,}23}$	$45 \frac{4{,}64}{\pm 0{,}27}$	$45 \frac{3{,}24}{\pm 0{,}24}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Hyphen und Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

wesender Pflanzenteile enthalten, die, wie bereits erwähnt, ein vorzügliches Substrat für die gegen den Pilz statisch wirkenden und sein Wachstum behindernden Antibionten sind. Den hier gefundenen und als *R. solani* ermittelten Keimstellen lag nur die Wirkung der verschiedenen Bodenarten zugrunde.

Aber noch eine weitere Feststellung kann man an Hand der Tabellen 2 und 3 treffen: Die Isolationswerte von Erdproben der gänzlich unbewachsen gehaltenen Töpfe decken sich weitgehend mit denen des undurchwurzelten Bodenanteils der allein mit Unkrautpflanzen bewachsenen Töpfe. Die untersuchten Unkrautarten fördern *R. solani* also nur in ihrer Rhizosphäre. Dabei ergeben sich, wie noch zu beschreiben ist, trotz ihrer Zugehörigkeit zu verschiedenen Familien, eigentümlicherweise auch quantitativ keine großen Unterschiede.

Die in gleicher Weise durchgeführte erste Auswertung im Herbst 1958 läßt zwar in den Ergebnissen (Tab. 3 gegen 2) auch die Förderung des Pilzes als solche erkennen. Ein Vergleich mit den Werten für die zweite Auswertung macht aber deutlich, daß eine Auswertung vor dem Eintreten erster Fröste keine genaue quantitative Aussage erlaubt, denn sie ist nur dann gesichert, wenn die gefundenen Keimstellen auch wirklich Sklerotien entsprechen.

d) Versuche, das saprophytische Leben von *Rhizoctonia solani* in den Rhizosphären nichtanfälliger Getreidearten und Unkräuter zu fördern

Schon Müller (1924) sowie Winter und v. Rümker (1949) hielten es für nicht ausgeschlossen, daß *R. solani* in der Rhizosphäre nichtanfälliger Pflanzen erhalten bleibt und sogar in ihr gefördert wird. Eine solche Förderung eines Pilzes in der Rhizosphäre nichtanfälliger Pflanzen hat v. Rümker (1952) für *Ascochyta pinodella* Jones festgestellt. Maispflanzen, die für diesen Pilz nicht anfällig sind, reicherten ihn wesentlich stärker im Boden an als anfällige Erbsenpflanzen.

Mangels einer geeigneten Methode unterblieben aber bisher ähnliche Versuche mit *R. solani*. Hier konnte ich bisher nachweisen, daß der Pilz nicht nur in der Rhizosphäre seines prototypischen Wirtes im parasitären Dasein, in der Rhizosphäre der Kartoffelstaude, sondern auch in den Wurzelbereichen einiger Unkräuter, die er nicht parasitär befallen kann, gefördert wird. Dies warf die Frage auf, ob auch nichtanfällige Kulturpflanzen *R. solani* in ihrer Rhizosphäre anreichern und ihn so gegen die fungistatischen Effekte antibiotisch wirkender Mikroorganismen begünstigen. Des weiteren interessierte, ob das schon beobachtete Fördern des Pilzes in der Rhizosphäre einiger Unkräuter Einzelfälle waren, oder ob viele oder gar alle Unkräuter den Pilz gegen die Antibiose förderten. Würden diese Vermutungen zutreffen, so könnte in dem Verunkrauten des Ackers ein nicht unbeträchtlicher Faktor der Bodenverseuchung liegen. Zugleich könnte die bekannte Tatsache erklären, daß Böden, die mehrere Jahre hindurch keine Wirtspflanzen trugen, ja selbst jungfräuliche Böden (Appel 1918), erheblich mit *R. solani* verseucht sein können.

Es muß allerdings betont werden, daß die Bezeichnung „Nichtwirtspflanze" für einige der zu untersuchenden Getreidearten nur bedingt zutrifft. Sie beruht nur auf der Tatsache, daß ich während des Auswertens dieser Pflanzen, nachdem die anhaftende Erde auf feuchtem oder trockenem Wege entfernt wurde, bei mikroskopischer Untersuchung in keinem Falle eine Beschädigung ihrer Wurzeln oder einen Befall durch *R. solani* feststellen konnte. In der europäischen *Rhizoctonia*-Literatur konnte ich ebenfalls keine Angabe über einen Befall der untersuchten Gramineen durch den Pilz finden. Eigentümlicherweise berichten demgegenüber außereuropäische Arbeiten wiederholt über Getreidebefall durch *R. solani*. So hat Rolfs (1905) Mais und Bruehl (1951) Weizen, Hafer und Gerste als anfällig für den Pilz beschrieben.

Wie bereits gesagt, wurden bei den hier durchgeführten Versuchen jede der zwei Auswertungen an 2 × 3 Blumentöpfen jeder Bodenart je Versuchspflanze vorgenommen. Zum Auswerten gelangten aus jedem der unkrautfrei gehaltenen Versuchsgefäße fünf Erdproben zu je 10 ccm aus der Rhizosphäre der Nichtwirtspflanzen und fünf weitere Proben zu 10 ccm aus dem restlichen wurzelfreien Boden der gleichen Töpfe, so daß jede Versuchsfraktion in fünfzehn Wiederholungen vertreten war.

Die zusätzlichen Versuchsgefäße, die mit Unkräutern bewachsen waren, wurden in gleicher Weise ausgewertet, nur untersuchte ich zusätzlich noch jeweils fünf Erdproben zu je 10 ccm aus der Rhizosphäre von Unkräutern.

Die Auswertung erfolgte in jedem Falle nach der schon eingangs beschriebenen Methode, wonach der quantitative Effekt an Hand der je Bodenprobe gefundenen *Rhizoctonia*-Keimstellen gemessen wird. Die Ergebnisse der für eine quantitative Aussage allein in Frage kommenden zweiten Auswertung sind in den Tabellen 4 bis 8 zusammengefaßt. Zwischen den Keimstellen der Bodenproben eines Topfes und zwischen denen der einzelnen Versuchsgefäße einer Versuchsfraktion ergeben sich nur so geringfügige Abweichungen, daß sie nicht ins Gewicht fallen und das Prinzipielle erkennen lassen.

Zunächst sollen nun die Ergebnisse der zweiten Auswertung der mit Weizen bepflanzten Töpfe beschrieben werden. Für die bepflanzten, aber unkrautfrei gehaltenen Töpfe ergibt sich folgendes Auswertungsbild: Die Zahlen für die als *R. solani* ermittelten Keimstellen lagen für Walderde aus der Rhizosphäre von Weizenpflanzen um 58 %, für Komposterde um 77 % und

Tabelle 4

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Weizen und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden $n \frac{M}{m}$	Komposterde $n \frac{M}{m}$	Auelehm $n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$
Boden mit Weizen bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Weizenrhizosphäre	$15 \frac{3{,}13}{\pm 0{,}21}$	$15 \frac{2{,}53}{\pm 0{,}28}$	$15 \frac{2{,}00}{\pm 0{,}28}$	$45 \frac{2{,}55}{\pm 0{,}16}$
		in der Weizenrhizosphäre	$15 \frac{4{,}93}{\pm 0{,}26}$	$15 \frac{4{,}47}{\pm 0{,}23}$	$15 \frac{3{,}13}{\pm 0{,}23}$	$45 \frac{4{,}18}{\pm 0{,}18}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Weizen- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{3{,}47}{\pm 0{,}26}$	$15 \frac{2{,}67}{\pm 0{,}28}$	$15 \frac{2{,}33}{\pm 0{,}26}$	$45 \frac{2{,}82}{\pm 0{,}17}$
		in der Weizenrhizosphäre	$15 \frac{5{,}07}{\pm 0{,}27}$	$15 \frac{4{,}47}{\pm 0{,}28}$	$15 \frac{3{,}27}{\pm 0{,}22}$	$45 \frac{4{,}27}{\pm 0{,}19}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{5{,}87}{\pm 0{,}28}$	$15 \frac{5{,}27}{\pm 0{,}27}$	$15 \frac{4{,}20}{\pm 0{,}27}$	$45 \frac{5{,}11}{\pm 0{,}19}$
			$75 \frac{4{,}49}{\pm 0{,}17}$	$75 \frac{3{,}88}{\pm 0{,}17}$	$75 \frac{2{,}99}{\pm 0{,}14}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

für Auelehm um 40 % höher als bei den Isolationen aus den Erdproben des restlichen undurchwurzelten Bodenanteils der gleichen Töpfe (Tab. 4).

In den mit Weizen und Unkräutern bepflanzten Töpfen lagen die Zahlen für die als *R. solani* ermittelten Keimstellen für Walderde aus der Rhizosphäre von Weizenpflanzen um 46 %, für Komposterde um 67 % und für Auelehm um 40 % höher als bei den Isolationen aus den Erdproben des restlichen undurchwurzelten Bodenanteils der gleichen Töpfe. Die grundsätzliche Förderung des saprophytischen Wachstums des Pilzes in der Rhizosphäre von nicht parasitär befallenen Weizenpflanzen ist daraus zu erkennen.

In den Rhizosphären der bei der Hälfte der Versuchsgefäße gleichzeitig in den Töpfen wachsenden Unkräuter wurde der Pilz jedoch in jedem Falle noch 15 bis 30 % mehr gefördert als in der Rhizosphäre der Weizenpflanzen.

Beim Vergleich der Mittelwerte der in der Weizenrhizosphäre unkrautbewachsener und unkrautfrei gehaltener Töpfe gefundenen Keimstellen ergab sich, abgesehen von unwesentlichen, noch im Bereich der Fehlergrenze liegenden Abweichungen, Übereinstimmung in den Ergebnissen. Auch für den undurchwurzelten Boden der gleichen Töpfe stimmten die gefundenen Keimzahlen in den unkrautbepflanzten Töpfen mit denen der unkrautfreien Töpfe weitgehend überein. Letzteres läßt in Verbindung mit der Tatsache, daß die gefundenen Werte hier weit unter denen aus der Unkrautrhizosphäre liegen, folgenden Schluß zu: Die Förderung von *R. solani* durch Unkräuter muß im wesentlichen auf deren Rhizosphäre beschränkt sein. Die für den undurchwurzelten Boden gefundenen Werte müßten sonst in den unkrautbewachsenen Töpfen erheblich höher als in den unkrautfreien liegen. Versuche mit unbepflanzten unkrautfreien Böden, im Vergleich mit solchen, die nur mit Unkräutern bewachsen waren (Kapitel 2 c), haben dies auch eindeutig bewiesen.

Den Mittelwert (4,49) der Anzahl je Bodenprobe gefundener Sklerotien in der Versuchsfraktion, die alle mit Waldboden gefüllten Töpfe umschließt (Tab. 4), kann man mit dem Mittelwert für die mit Komposterde (3,88) bzw. Auelehm (2,99) gefüllten Töpfe vergleichen. Es zeigt sich dabei, daß der Pilz in den verschiedenen Böden um so besser saprophytisch lebt, je reicher der Boden an Rohhumus ist.

Schließlich sollen hier die Ergebnisse der Versuche über die Beeinflussung des Wachstums von *R. solani* durch Bepflanzung der Böden mit Weizen (Tab. 4) mit denen bei der Bepflanzung der Böden mit Gerste (Tab. 5), Roggen (Tab. 6), Hafer (Tab. 7) und Mais (Tab. 8) verglichen werden. Dabei ergibt sich, daß alles, was über die Förderung von *R. solani* in den einzelnen Versuchsfraktionen der mit Weizen bepflanzten Töpfe gesagt wurde, auch für die entsprechenden Versuchsfraktionen der mit den anderen Gramineen bepflanzten Töpfe zutrifft.

Auch hier ist der Pilz in der Rhizosphäre der Versuchspflanzen etwa um die Hälfte mehr als im undurchwurzelten Boden der gleichen Töpfe gewachsen. Gleichzeitig in den Töpfen wachsende Unkräuter förderten das Wachstum des Pilzes nur in ihrer Rhizosphäre. Das geht aus der weitgehenden Übereinstimmung der Ergebnisse gleicher Versuchsfraktionen in unkraut-

Tabelle 5

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Gerste und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden $n \frac{M}{m}$	Komposterde $n \frac{M}{m}$	Auelehm $n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$
Boden mit Gerste bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Gersterhizosphäre	$15 \frac{2,87}{\pm 0,23}$	$15 \frac{2,33}{\pm 0,24}$	$15 \frac{1,87}{\pm 0,30}$	$45 \frac{2,36}{\pm 0,16}$
		in der Gersterhizosphäre	$15 \frac{4,60}{\pm 0,25}$	$15 \frac{4,07}{\pm 0,29}$	$15 \frac{2,73}{\pm 0,22}$	$45 \frac{3,80}{\pm 0,19}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Gerste- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{3,13}{\pm 0,32}$	$15 \frac{2,40}{\pm 0,25}$	$15 \frac{2,20}{\pm 0,25}$	$45 \frac{2,58}{\pm 0,17}$
		in der Gersterhizosphäre	$15 \frac{4,60}{\pm 0,25}$	$15 \frac{4,33}{\pm 0,31}$	$15 \frac{3,07}{\pm 0,27}$	$45 \frac{4,00}{\pm 0,19}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{6,07}{\pm 0,27}$	$15 \frac{5,60}{\pm 0,30}$	$15 \frac{4,33}{\pm 0,31}$	$45 \frac{5,33}{\pm 0,20}$
			$75 \frac{4,25}{\pm 0,17}$	$75 \frac{3,75}{\pm 0,19}$	$75 \frac{2,84}{\pm 0,16}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

freien und unkrautbepflanzten Töpfen hervor. Dabei reicherten die Rhizosphären dieser Unkräuter in jedem Falle den Pilz mehr an, als die Rhizosphären der untersuchten Gramineen. Das kann ein erheblicher Faktor der Bodenverseuchung sein, zumal sich bei mikroskopischer Untersuchung der Unkrautwurzeln nach Entfernung der anhaftenden Erde auf trockenem oder feuchtem Wege herausstellte, daß diese keinerlei Beschädigungen und keinen Befall durch *R. solani* hatten. Bei diesen untersuchten Unkräutern handelt es sich um fast dieselben wie bei den im Zusammenhang mit Weizen untersuchten. Die aus den Tabellen ersichtliche weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse für die einzelnen Bodenproben, die ja aus der Rhizosphäre verschiedener Unkräuter stammen, macht deutlich, daß in dem fördernden Wirken der einzelnen Unkrautarten kein großer Unterschied bestehen kann. Das gilt selbst für Unkräuter aus verschiedenen Familien. Durchschnittlich lagen in

Tabelle 6

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Roggen und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden	Komposterde	Auelehm	$\frac{n}{m}$ M
			$\frac{n}{m}$ M	$\frac{n}{m}$ M	$\frac{n}{m}$ M	
Boden mit Roggen bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Roggenrhizosphäre	$15 \frac{2{,}80}{\pm 0{,}29}$	$15 \frac{1{,}73}{\pm 0{,}26}$	$15 \frac{1{,}80}{\pm 0{,}27}$	$45 \frac{2{,}11}{\pm 0{,}18}$
		in der Roggenrhizosphäre	$15 \frac{4{,}47}{\pm 0{,}24}$	$15 \frac{3{,}73}{\pm 0{,}30}$	$15 \frac{2{,}93}{\pm 0{,}24}$	$45 \frac{3{,}71}{\pm 0{,}18}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Roggen- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{3{,}53}{\pm 0{,}23}$	$15 \frac{2{,}47}{\pm 0{,}30}$	$15 \frac{2{,}20}{\pm 0{,}23}$	$45 \frac{2{,}73}{\pm 0{,}17}$
		in der Roggenrhizosphäre	$15 \frac{4{,}53}{\pm 0{,}26}$	$15 \frac{4{,}13}{\pm 0{,}30}$	$15 \frac{2{,}67}{\pm 0{,}26}$	$45 \frac{3{,}78}{\pm 0{,}20}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{5{,}80}{\pm 0{,}25}$	$15 \frac{5{,}20}{\pm 0{,}29}$	$15 \frac{4{,}07}{\pm 0{,}32}$	$45 \frac{5{,}02}{\pm 0{,}18}$
			$75 \frac{4{,}23}{\pm 0{,}16}$	$75 \frac{3{,}45}{\pm 0{,}19}$	$75 \frac{2{,}73}{\pm 0{,}15}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

allen Versuchsfraktionen die gefundenen Werte in Komposterde etwa 30 % und in Walderde 50 % über denen in Auelehm. Das weist auch hier auf die unterschiedliche Eignung der Böden als saprophytisches Substrat des Pilzes, oder — was noch zu besprechen ist — in umgekehrter Reihe auf das Vorkommen von Antibionten hin.

Quantitativ ergeben sich geringfügige Unterschiede in der Förderung von *R. solani* bei Bepflanzung des Bodens mit den verschiedenen Getreidearten. Das zahlenmäßige Verhältnis der Versuchsfraktionen zueinander wird aber dadurch nicht beeinträchtigt. Den Mittelwert der Anzahl je Bodenprobe gefundener Sklerotien in der Versuchsfraktion, die alle mit Weizen bepflanzten Töpfe umfaßt, kann man mit den entsprechenden Mittelwerten für die anderen untersuchten Getreidearten vergleichen. Es zeigt sich dabei, daß der Pilz in den Töpfen, die mit Gerste (3,61) bzw. Roggen (3,47) bepflanzt

waren, um 4,7 % bzw. 8,4 % weniger gefördert wurde, als in Töpfen, die Weizen (3,79) enthielten. In mit Hafer (4,06) oder Mais (4,42) bepflanzten Versuchsgefäßen war er dagegen um 7,1 % bzw. 16,6 % mehr angereichert worden, als in den mit Weizen bepflanzten Töpfen. Die in Klammern genannten Zahlen sind Mittelwerte. Etwa dieselben Zahlenverhältnisse finden wir auch bei dem Vergleich der Ergebnisse in den einander entsprechenden Versuchsfraktionen für die einzelnen Pflanzen. Alle diese nicht parasitär befallenden Pflanzen fördern den Pilz in ihrer Rhizosphäre. Es erscheint auch wahrscheinlich, daß sein Wachstum, zumindest durch Hafer und Mais, wenn auch nur gering, im undurchwurzelten Boden der gleichen Töpfe noch begünstigt wird. Die gefundenen Isolationswerte für undurchwurzelten Boden mit Hafer oder Mais bepflanzter Töpfe liegen erheblich höher als die für den undurchwurzelten Bodenanteil mit Weizen, Roggen oder Gerste bepflanzter

Tabelle 7

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Hafer und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden	Komposterde	Auelehm	n M / m
Boden mit Hafer bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Haferrhizosphäre	15 3,40 ± 0,23	15 2,93 ± 0,26	15 2,27 ± 0,26	45 2,87 ± 0,16
		in der Haferrhizosphäre	15 6,13 ± 0,30	15 5,00 ± 0,30	15 3,80 ± 0,25	45 4,98 ± 0,22
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Hafer- und Unkrautrhizosphäre	15 3,27 ± 0,26	15 2,73 ± 0,22	15 2,07 ± 0,28	45 2,69 ± 0,16
		in der Haferrhizosphäre	15 5,33 ± 0,26	15 4,67 ± 0,24	15 3,47 ± 0,30	45 4,49 ± 0,19
		in der Unkrautrhizosphäre	15 6,27 ± 0,32	15 5,40 ± 0,25	15 4,20 ± 0,32	45 5,29 ± 0,21
			75 4,88 ± 0,19	75 4,15 ± 0,17	75 3,16 ± 0,16	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Töpfe. Das Mehr an hier je Bodenprobe ermittelter *Rhizoctonia*-Keimstellen muß einer von der Hafer- bzw. Mais-Rhizosphäre ausgehenden Begünstigung des Pilzwachstums im undurchwurzelten Boden, also einer gewissen Fernwirkung, zugeschrieben werden. In dem Maße, wie nämlich die Zahlen für die als *R. solani* ermittelten Keimstellen in der Rhizosphäre der Hafer- oder Maispflanzen höher sind, sind es auch die Werte für den undurchwurzelten Bodenanteil der gleichen Töpfe. Die Mittelwerte der Anzahl je Bodenprobe aus den Unkrautrhizosphären aller drei Böden als *R. solani* ermittelter Keimstellen lagen bei den Versuchen mit den verschiedenen Getreidepflanzen nahe beieinander. Nur die Bodenproben aus den Unkrautrhizosphären mit Mais bepflanzter Töpfe ergaben deutlich höhere Werte.

Zusammenfassend kann man zu den Versuchen über die Förderung des Pilzes durch die Rhizosphären nichtanfälliger Kulturgramineen und Unkräu-

Tabelle 8

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Mais und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden	Komposterde	Auelehm	$n \frac{M}{m}$
			$n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$	
Boden mit Mais bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Maisrhizosphäre	$15 \frac{4,07}{\pm 0,27}$	$15 \frac{3,07}{\pm 0,26}$	$15 \frac{2,53}{\pm 0,25}$	$45 \frac{3,22}{\pm 0,18}$
		in der Maisrhizosphäre	$15 \frac{5,47}{\pm 0,25}$	$15 \frac{5,47}{\pm 0,28}$	$15 \frac{3,40}{\pm 0,23}$	$45 \frac{4,78}{\pm 0,21}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Mais- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{3,87}{\pm 0,25}$	$15 \frac{3,33}{\pm 0,24}$	$15 \frac{2,73}{\pm 0,26}$	$45 \frac{3,31}{\pm 0,16}$
		in der Maisrhizosphäre	$15 \frac{6,07}{\pm 0,28}$	$15 \frac{4,93}{\pm 0,28}$	$15 \frac{4,13}{\pm 0,26}$	$45 \frac{5,04}{\pm 0,20}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{6,80}{\pm 0,30}$	$15 \frac{5,87}{\pm 0,30}$	$15 \frac{4,53}{\pm 0,28}$	$45 \frac{5,73}{\pm 0,21}$
			$75 \frac{5,26}{\pm 0,17}$	$75 \frac{4,53}{\pm 0,18}$	$75 \frac{3,46}{\pm 0,14}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

ter folgendes feststellen: Die Rhizosphären von fünf untersuchten Hauptgetreidearten sind so wachstumsfördernd für *R. solani*, daß der Pilz in ihnen besser den Antibionten widerstehen, saprophytisch wachsend sich vermehren und Sklerotien bilden kann, als im undurchwurzelten Boden gleicher Versuchsgefäße. Roggen hatte die geringste, Mais die größte fördernde Wirkung, doch war sie beim Mais nur 27 % größer als bei Roggen. Die Förderung war in jedem Falle geringer als in der Rhizosphäre von Unkräutern. Diese erwiesen sich, ohne Unterschied ihrer Zugehörigkeit zu verschiedenen Familien, alle als gleich fördernd. Die Unterschiede lagen innerhalb der Fehlergrenze. Die Förderung des Pilzes war jedoch bei den Unkräutern auf deren Rhizosphäre beschränkt, während sich bei den verwendeten Kulturpflanzen, zumindest bei Hafer- und Maispflanzen, eine geringe Beeinflussung des Pilzwachstums in dem ihre Rhizosphären umgebenden undurchwurzelten Boden, also eine Fernwirkung im Boden, nachweisen ließ.

Selbst wenn man mit der in der landwirtschaftlichen Großproduktion kaum zu erfüllenden Bedingung rechnet, daß die Äcker ganz unkrautfrei gehalten werden können, würde das bedeuten, daß Fruchtwechsel zwischen Hackfrüchten und Getreide die Bodenverseuchung nicht aufheben kann. Zumindest werden dem Boden dabei wohl soviel neue Sklerotien zugeführt, wie in dieser Zeit infolge Zersetzung zugrunde gehen. Die Versuche lassen auch erkennen, daß der Boden in Abhängigkeit von seiner Eignung als saprophytisches Substrat bei der Erhaltung des Pilzes im Boden eine nicht zu unterschätzende Rolle spielt. Die Sklerotienbildung findet also selbst in Böden statt, die nicht mit anfälligen Pflanzen bewachsen sind, wenn der Boden mit *R. solani* infiziert ist.

e) Versuche, das saprophytische Leben von *Rhizoctonia solani* durch Bepflanzen des Bodens mit anfälligen Leguminosen und Hackfrüchten zu fördern

Nachdem die bisher beschriebenen Versuchsergebnisse für *R. solani* eine Förderung seines saprophytischen Wachstums in der Rhizosphäre nichtanfälliger Pflanzen erkennen lassen, erhebt sich die Frage, ob der Pilz durch Wirtspflanzen ebenso oder mehr im Boden angereichert wird. In dem Versuch im Sommer 1956 (HERZOG und WARTENBERG 1958) war es so. Nach dem von v. RÜMKER (1952) Gesagten (siehe Seite 391) braucht das nicht unbedingt so zu sein. Das ist auch verständlich, wenn man bedenkt, daß die höhere Pflanze durch Wurzelausscheidungen in ihrer Rhizosphäre Sonderbedingungen gegenüber dem freien Boden schafft. Die Ausscheidungen der Wurzeln oder die durch sie bedingte spezifische Rhizosphärenmikroflora, können auf einen Pilz fungistatisch wirken, seine Entwicklung und den Angriff auf die Pflanze verhindern. Sie können aber vielleicht auch dem Pilz in ihren Rhizosphären günstigere Lebensbedingungen verschaffen und ihn gegen seine Antibionten begünstigen. Daraus ergeben sich für den Pilz in der Rhizosphäre höherer Pflanzen verschiedene Möglichkeiten. Er kann, wenn es sich um anfällige Pflanzen handelt, in die Wurzeln eindringen. Er kann sich aber auch, ohne pathogen zu werden, in der Rhizosphäre dieser Pflanzen infolge besonders

günstiger Lebensbedingungen ausbreiten und so zunächst erst unmerklich die Bodenverseuchung erhöhen.

Für die nun hier zu beschreibenden Ergebnisse der Versuche über das saprophytische Wachstum von *R. solani* im Boden, der mit Wirtspflanzen bebaut war, sind Pflanzen aus den drei Familien der *Leguminosae, Chenopodiaceae* und *Solanaceae* herangezogen worden. Die verwendeten Arten verdienen mit Recht die Bezeichnung „Wirtspflanzen", da von jeder Art einige Pflanzen während der Vegetationsperiode oder zur Zeit der Auswertungen typische Wurzel-, Stengel- oder Fruchtbeschädigungen durch *R. solani* erkennen ließen. Mit dem Nachweis des parasitären Befalls ist aber noch nichts über die Verhältnisse in der Rhizosphäre dieser Pflanzen gesagt. Deshalb sollten mit den hier durchgeführten Untersuchungen nicht nur prozentuale Angaben über die Beeinflussung des Pilzes durch die einzelnen Wirtspflanzen angestrebt werden. Es sollte auch, wenigstens indirekt, versucht werden festzustellen, ob eine Förderung des Pilzes durch diese Pflanzen auf den Effekt der parasitär bewohnten Wurzel oder, wie bei den nichtanfälligen Pflanzen, auf die Einwirkung der Rhizosphäre zurückzuführen ist. Schließlich besteht ja auch noch die Möglichkeit, daß beide Faktoren gemeinsam fördern. Daraus ergäbe sich dann die weitere Frage, ob eine solche Förderung des Pilzes auf die wurzelnahe Zone der Rhizosphäre dieser Pflanzen beschränkt bleibt oder ob auch der diese Pflanzen umgebende undurchwurzelte Boden, von ihr aus gefördert, verseucht wird.

Das Bepflanzen, Beimpfen und Auswerten der Versuchsgefäße erfolgte wieder nach der eingangs beschriebenen Methode. In dem schon oben beschriebenen Versuch des Sommers 1956 hatte sich ergeben, daß der Pilz im Boden, in der Rhizosphäre von Unkräutern, stärker gefördert wurde als in dem Boden, der allein von der Kartoffelpflanze durchwurzelt war. Deshalb wurden auch in den späteren Versuchen bei der Hälfte der Fraktionen gleichzeitig mit den Wirtspflanzen wachsende (wie sich herausstellte: nichtanfällige) Unkräuter untersucht. Damit sollte den natürlichen Verhältnissen in den Äckern Rechnung getragen werden, unter denen die untersuchten Kulturpflanzen fast immer gemeinsam mit Unkräutern vorkommen.

Für jede der auch zu dieser Versuchsserie durchgeführten zwei Auswertungen standen wieder sechs Töpfe jeder Bodenart je Versuchspflanze zur Verfügung. Die Ergebnisse beruhen, wie bei der vorhergehenden Versuchsserie, auf der Auswertung von je fünf Erdproben zu 10 ccm aus der Rhizosphäre der Wirtspflanzen und dem undurchwurzelten Boden desselben Topfes von jedem der unkrautfrei gehaltenen Versuchsgefäße. Aus den gleichzeitig unkrautbewachsenen Töpfen kamen zusätzlich je fünf Erdproben zu 10 ccm aus der Rhizosphäre der Unkräuter zur Auswertung. Auch bei diesen Versuchen ist der Effekt der Förderung des Wachstums von *R. solani* an der Anzahl je Bodenprobe gefundener Keimstellen des Pilzes zu ermessen.

Bezüglich der Zusammenfassung der Mittelwerte und Einzelergebnisse in Tabellen gilt das, was für die Versuchsserie mit Gramineen gesagt wurde.

Zunächst sollen die mit Chenopodiaceen durchgeführten Versuche beschrieben werden. Bei den auch hier füe die quantitative Aussage entschei-

Tabelle 9

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Futterrüben und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden $n \frac{M}{m}$	Komposterde $n \frac{M}{m}$	Auelehm $n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$
Boden mit Futterrüben bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Rübenrhizosphäre	$15 \frac{5,47}{\pm 0,28}$	$15 \frac{4,47}{\pm 0,26}$	$15 \frac{3,87}{\pm 0,26}$	$45 \frac{4,60}{\pm 0,19}$
		in der Rübenrhizosphäre	$15 \frac{7,67}{\pm 0,30}$	$15 \frac{6,53}{\pm 0,23}$	$15 \frac{5,87}{\pm 0,25}$	$45 \frac{6,69}{\pm 0,19}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Rüben- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{5,47}{\pm 0,26}$	$15 \frac{4,40}{\pm 0,25}$	$15 \frac{3,60}{\pm 0,25}$	$45 \frac{4,49}{\pm 0,18}$
		in der Rübenrhizosphäre	$15 \frac{7,53}{\pm 0,30}$	$15 \frac{5,93}{\pm 0,26}$	$15 \frac{5,67}{\pm 0,26}$	$45 \frac{6,38}{\pm 0,20}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{7,13}{\pm 0,26}$	$15 \frac{6,47}{\pm 0,25}$	$15 \frac{5,80}{\pm 0,27}$	$45 \frac{6,47}{\pm 0,17}$
			$75 \frac{6,65}{\pm 0,17}$	$75 \frac{5,56}{\pm 0,16}$	$75 \frac{4,96}{\pm 0,16}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

denden Ergebnissen der zweiten Auswertung zeigte sich, daß *R. solani* in den mit Futterrüben bepflanzten Töpfen wesentlich mehr angereichert wird als in den mit Gramineen bepflanzten. Der gefundene Isolationswert (6,69, in Tab. 9) lag für die Rhizosphäre der Futterrüben, in der die Ergebnisse aus allen drei Böden erfassenden Versuchsfraktion, um 80 % über dem der entsprechenden Versuchsfraktion für die Rhizosphäre von Roggenpflanzen. (3,71 in Tab. 6). Derselbe Wert lag noch um 40 % höher als der der entsprechenden Versuchsfraktion für die Rhizosphäre von Maispflanzen (4,78 in Tab. 8) und sogar etwa dreimal so hoch wie die Werte (2,55 in Tab. 4; 2,36 in Tab. 5 und 2,11 in Tab. 6), die für den undurchwurzelten Bodenanteil der mit Weizen, Gerste oder Roggen bepflanzten Töpfe, in der die Ergebnisse aus allen drei Böden erfassenden Versuchsfraktion, gefunden wurden.

In den unkrautfrei gehaltenen Töpfen lagen aber die Zahlen für die als *R. solani* ermittelten Keimstellen für Walderde aus der Rhizosphäre von Futterrüben auch nur um 40 %, für Komposterde um 46 % und für Auelehm um 52 % über denen bei Isolationen aus Erdproben des restlichen undurchwurzelten Bodenanteils der gleichen Töpfe. In den gleichzeitig mit Unkräutern bewachsenen Töpfen lag die Anzahl der *Rhizoctonia*-Keimstellen, die in der Rübenrhizosphäre gefunden wurden, für Walderde 38 %, für Komposterde 35 % und für Auelehm um 57 % über denen aus dem undurchwurzelten Bodenanteil der gleichen Töpfe. Wie schon bei den nichtanfälligen Kulturpflanzen der vorangegangenen Versuchsserie, decken sich dabei auch hier die Mittelwerte der Anzahl als *R. solani* ermittelter Keimstellen für die Erdproben aus dem undurchwurzelten Bodenanteil der unkrautfreien und unkrautbepflanzen Töpfe weitgehend. Ebenso stimmen die ermittelten Keimzahlen für Erdproben aus der Rhizosphäre der Futterrüben unkrautfreier und unkrautbewachsener Töpfe nahe überein. Daraus ist ersichtlich, daß die Wirkung der Unkräuter, die den Pilz *R. solani* vermehren, auf die Rhizosphären der Unkräuter beschränkt bleibt.

Die Ergebnisse der zusammenfassenden Versuchsfraktion, die alle in Walderde an Futterrüben durchgeführten Versuche umfaßt, kann man mit den Ergebnissen der entsprechenden Versuchsfraktionen mit Komposterde und Auelehm vergleichen (Tab. 9). Es zeigt sich dabei, daß der Mittelwert der Anzahl je Bodenprobe gefundener Sklerotien in Komposterde um 12 % und in Walderde sogar um 34 % höher als in Auelehm liegt. Auch bei den einzelnen Versuchen ergibt sich etwa das gleiche Bild. Daran kann man auch hier die Eignung des Bodens als saprophytisches Substrat für den Pilz erkennen.

Des weiteren veranschaulichen die Ergebnisse, daß die Futterrüben den Pilz nicht nur in ihrer Rhizosphäre fördern, sondern auch sein Wachstum im umgebenden undurchwurzelten Boden der gleichen Töpfe begünstigen und zwar wesentlich mehr, als dies der Hafer oder der Mais vermögen. Letzteres läßt sich durch folgenden Vergleich beweisen: Würde sich die fördernde Wirkung gegenüber *R. solani* auf die Rhizosphäre der Futterrüben beschränken, so müßten die Zahlen für die als *R. solani* ermittelten Keimstellen je Bodenprobe aus dem undurchwurzelten Bodenanteil mit Gramineen bzw. Futterrüben bepflanzter Töpfe gleicher Bodenart übereinstimmen; sie müßten für die Versuche mit Rüben sogar niedriger liegen als für die mit Hafer oder Mais, denn zumindest diese letzteren haben einen begünstigenden Einfluß auf das Wachstum des Pilzes auch außerhalb ihrer Rhizosphäre. Das ist aber nicht der Fall, es läßt sich vielmehr in den mit Futterrüben bewachsenen Böden in allen Versuchsfraktionen ein beträchtliches Mehr an Keimstellen je untersuchter Bodenprobe ermitteln. Daraus wird deutlich, daß sich die fördernde Wirkung der Wirtspflanzenrhizosphäre auch auf das Wachstum des Pilzes in dem sie umgebenden undurchwurzelten Boden günstig auswirkt. Dieser Effekt muß sogar recht erheblich sein, denn die Isolationswerte lagen für undurchwurzelten Boden rübenbepflanzter Töpfe in allen drei Böden fast doppelt so hoch, wie die für undurchwurzelte Böden mit Weizen, Roggen oder Gerste bepflanzter Töpfe. Sie lagen auch noch um die Hälfte höher als

im undurchwurzelten Boden mit Mais bepflanzter Töpfe und auch noch höher als die von Erdproben aus der Rhizosphäre von Maispflanzen.

Auch in der Rhizosphäre von Unkräutern mit Futterrüben bepflanzter Töpfe wird der Pilz mehr angereichert als in der Rhizosphäre von Unkräutern in Gramineen-Töpfen. Der prozentuale Unterschied ist allerdings nicht so groß, wie der zwischen der Förderung des Pilzes in der Rhizosphäre von Gramineen und Futterrüben. Bei den Unkräutern handelte es sich im wesentlichen um die gleichen Arten wie bei den Getreideversuchen. Man kann deshalb annehmen, daß es wohl die fördernde Wirkung der Futterrübenrhizosphäre ist, die das saprophytische Wachstum von *R. solani* auch in der Unkrautrhizosphäre zusätzlich begünstigt. Nur deshalb fördern die Rhizosphären nichtanfälliger Unkräuter fast ebenso stark, wie die der anfälligen Futterrüben. Da, wie schon mehrfach gezeigt, die untersuchten Unkräuter den Pilz nur in ihrer Rhizosphäre fördern, muß der Vergleich der Ergebnisse für die Unkrautrhizosphären der gleichzeitig mit Kulturpflanzen bewachsenen Töpfe mit den Ergebnissen von Versuchen in unbepflanzten Böden und solchen, die nur mit Unkräutern bewachsen waren (Tab. 2), dies beweisen. Das Mehr an gefundenen Sklerotien je Bodenprobe aus den Unkrautrhizosphären mit Kulturpflanzen bepflanzter Versuchsgefäße, gegenüber der Anzahl Sklerotien je Bodenprobe aus den Unkrautrhizosphären der nur mit Unkräutern bewachsenen Töpfe, muß auf einer Beeinflussung des saprophytischen Wachstums des Pilzes in den Unkrautrhizosphären durch sein Wachstum in den Rhizosphären der gleichzeitig in den Töpfen wachsenden Kulturpflanzen beruhen. Das Mehr an *Rhizoctonia*-Keimstellen, das sich für Bodenproben aus dem undurchwurzelten Bodenanteil der mit Kulturpflanzen bewachsenen aber unkrautfreien Töpfe gegenüber Bodenproben aus gänzlich unbewachsenen Töpfen ergibt, macht auch nochmals deutlich, daß die untersuchten Kulturpflanzen in unterschiedlichem Maße das Wachstum des Pilzes auch außerhalb ihrer Rhizosphäre begünstigen.

Daß die Begünstigung des Pilzes in der Rhizosphäre der Futterrüben und über deren Rhizosphäre hinaus auch im undurchwurzelten Boden auf dem Effekt der parasitär bewohnten Wurzel beruht, ist überraschenderweise kaum anzunehmen. Die bei den Versuchen gewonnen Einzelergebnisse zeigen nämlich, daß in allen Versuchsfraktionen der Boden aus der Rhizosphäre mit *R. solani* befallener Futterrüben, wie auch der diese Rhizosphären umgebende Boden nicht mehr von dem Pilz enthielten, als entsprechende Erdproben aus Töpfen mit nicht befallenen Rübenpflanzen.

Die hier für die Futterrüben im einzelnen beschriebenen Ergebnisse sowie die daraus gezogenen Schlußfolgerungen treffen auch für die Versuche mit Zuckerrüben (Tab. 10) zu. Die Anzahl der als *R. solani* ermittelten Keimstellen war in allen Versuchsfraktionen etwas geringer als bei den Versuchen mit Futterrüben. Das ist auch aus dem Mittelwert (5,32) der Anzahl je Bodenprobe gefundener Sklerotien in der Versuchsfraktion, die alle mit Zuckerrüben bepflanzten Töpfe umfaßt, ersichtlich. Er liegt um 7,7 % niedriger als der entsprechende Mittelwert (5,73) für Futterrüben, aber immer noch 53 % höher als der für Roggen (3,47).

Tabelle 10

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Zuckerrüben und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden $n \frac{M}{m}$	Komposterde $n \frac{M}{m}$	Auelehm $n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$
Boden mit Zuckerrüben bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Rübenrhizosphäre	$15 \frac{4,47}{\pm 0,25}$	$15 \frac{3,87}{\pm 0,30}$	$15 \frac{2,53}{\pm 0,21}$	$45 \frac{3,62}{\pm 0,19}$
		in der Rübenrhizosphäre	$15 \frac{7,27}{\pm 0,27}$	$15 \frac{6,27}{\pm 0,26}$	$15 \frac{5,27}{\pm 0,27}$	$45 \frac{6,27}{\pm 0,20}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Rüben- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{5,13}{\pm 0,30}$	$15 \frac{4,20}{\pm 0,23}$	$15 \frac{3,27}{\pm 0,27}$	$45 \frac{4,20}{\pm 0,19}$
		in der Rübenrhizosphäre	$15 \frac{7,20}{\pm 0,32}$	$15 \frac{6,20}{\pm 0,32}$	$15 \frac{5,53}{\pm 0,25}$	$45 \frac{6,31}{\pm 0,19}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{6,93}{\pm 0,30}$	$15 \frac{5,93}{\pm 0,25}$	$15 \frac{5,73}{\pm 0,27}$	$45 \frac{6,20}{\pm 0,17}$
			$75 \frac{6,20}{\pm 0,18}$	$75 \frac{5,29}{\pm 0,17}$	$75 \frac{4,47}{\pm 0,19}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Für die untersuchten Arten aus den Familien der Leguminosen und Solanaceen gilt bezüglich ihres Verhaltens gegenüber *R. solani* prinzipiell das für Rübenpflanzen Gesagte: In jedem Falle wird der Pilz in der Rhizosphäre der untersuchten Pflanzen etwa um die Hälfte mehr gefördert als im undurchwurzelten Boden derselben Töpfe. Dabei ergeben sich auch hier keine wesentlichen Unterschiede zwischen den gefundenen Werten in Versuchsgefäßen, die gleichzeitig unkrautbewachsen und solchen, die unkrautfrei gehalten waren. Geringfügige Abweichungen der ermittelten Werte voneinander sind innerhalb der einzelnen Versuchsfraktionen methodisch bedingt und liegen im Bereich der Fehlergrenze. Auch hier ergibt sich also, was bei den bereits beschriebenen Versuchen wiederholt festgestellt werden konnte, daß Unkräuter *R. solani* nur in ihrer Rhizosphäre begünstigen und keine Fernwirkung haben.

Tabelle 11

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Gartenbohnen und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden $n \frac{M}{m}$	Komposterde $n \frac{M}{m}$	Auelehm $n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$
Boden mit Gartenbohnen bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Bohnenrhizosphäre	$15 \frac{4{,}53}{\pm 0{,}26}$	$15 \frac{3{,}40}{\pm 0{,}23}$	$15 \frac{3{,}00}{\pm 0{,}22}$	$45 \frac{3{,}64}{\pm 0{,}16}$
		in der Bohnenrhizosphäre	$15 \frac{7{,}07}{\pm 0{,}27}$	$15 \frac{5{,}87}{\pm 0{,}25}$	$15 \frac{4{,}73}{\pm 0{,}29}$	$45 \frac{5{,}89}{\pm 0{,}21}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Bohnen- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{4{,}80}{\pm 0{,}27}$	$15 \frac{3{,}67}{\pm 0{,}24}$	$15 \frac{2{,}93}{\pm 0{,}26}$	$45 \frac{3{,}80}{\pm 0{,}19}$
		in der Bohnenrhizosphäre	$15 \frac{6{,}87}{\pm 0{,}29}$	$15 \frac{5{,}87}{\pm 0{,}26}$	$15 \frac{4{,}40}{\pm 0{,}30}$	$45 \frac{5{,}71}{\pm 0{,}22}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{7{,}00}{\pm 0{,}33}$	$15 \frac{6{,}27}{\pm 0{,}31}$	$15 \frac{5{,}13}{\pm 0{,}28}$	$45 \frac{6{,}13}{\pm 0{,}21}$
			$75 \frac{6{,}05}{\pm 0{,}18}$	$75 \frac{5{,}02}{\pm 0{,}18}$	$75 \frac{4{,}04}{\pm 0{,}16}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Die wieder um die Hälfte stärkere Förderung des Pilzes in den Rhizosphären der Wirtspflanzengegenüber dem sie umgebenden freien Boden kann zu der Annahme verleiten, daß hier dieselben Verhältnisse vorliegen wie bei den nicht parasitär befallenen Gramineen. Aber der schon bei den Versuchen mit Rübenpflanzen ersichtliche Unterschied tritt hier zum Teil noch mehr in Erscheinung. Alle hier in die Untersuchungen einbezogenen Wirtspflanzen des Pilzes förderten sein Wachstum im Boden wesentlich mehr, als die diesbezüglich untersuchten Gramineen. *R. solani* wird in der Rhizosphäre von Gartenbohnen (Tab. 11) im Durchschnitt der Werte aus allen drei Böden geringfügig weniger als in der Rhizosphäre von Zuckerrüben gefördert. Dagegen entspricht die Förderung in der Rhizosphäre von Ackerbohnen (Tab. 12) etwa der durch Zuckerrüben. Erbsen (Tab. 13) und Tomaten (Tab. 14) reichern den Pilz in ihrer Rhizosphäre schon etwa 15 % und Kar-

toffeln sogar über 30 % mehr an, als die von den untersuchten Wirtspflanzen am wenigsten fördernden Gartenbohnen.

Es wird dabei klar, daß die einzelnen Pflanzen das Wachstum des Pilzes, abhängig von ihrer Zugehörigkeit zu verschiedenen Familien, verschieden stark begünstigen. Nur ein Teil der untersuchten Pflanzen jeder Art zeigte aber Symptome eines Befalls durch den Pilz. Es war deshalb nötig, die Anzahl ermittelter Keimstellen je Bodenprobe aus der Rhizosphäre befallener Pflanzen bzw. dem undurchwurzelten Boden derselben Töpfe mit den entsprechenden Werten für nicht parasitär befallene Pflanzen der gleichen Art zu vergleichen. Dabei ergab sich, wie schon bei den Versuchen mit Rüben, in allen Versuchsfraktionen eine unerwartete Übereinstimmung der Ergebnisse für befallene und nicht befallene Pflanzen. Die Begünstigung des Pilzes durch seine Wirtspflanzen scheint also nicht, oder zumindest nicht nur, auf dem

Tabelle 12

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Ackerbohnen und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden	Komposterde	Auelehm	n M m
			n M m	n M m	n M m	
Boden mit Ackerbohnen bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Bohnenrhizosphäre	15 5,07 ± 0,27	15 3,93 ± 0,26	15 3,40 ± 0,25	45 4,13 ± 0,18
		in der Bohnenrhizosphäre	15 7,53 ± 0,26	15 6,47 ± 0,25	15 5,20 ± 0,25	45 6,40 ± 0,20
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Bohnen- und Unkrautrhizosphäre	15 4,93 ± 0,29	15 3,60 ± 0,25	15 3,07 ± 0,26	45 3,87 ± 0,19
		in der Bohnenrhizosphäre	15 6,93 ± 0,29	15 6,13 ± 0,26	15 4,93 ± 0,27	45 6,00 ± 0,20
		in der Unkrautrhizosphäre	15 7,33 ± 0,29	15 6,73 ± 0,26	15 5,33 ± 0,26	45 6,46 ± 0,20
			75 6,36 ± 0,18	75 5,37 ± 0,19	75 4,39 ± 0,16	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Tabelle 13

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Erbsen und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden	Komposterde	Auelehm	n M / m
			n M / m	n M / m	n M / m	
Boden mit Erbsen bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Erbsenrhizosphäre	15 5,60 / ± 0,25	15 4,80 / ± 0,28	15 2,73 / ± 0,27	45 4,38 / ± 0,24
		in der Erbsenrhizosphäre	15 8,00 / ± 0,33	15 6,80 / ± 0,33	15 5,80 / ± 0,29	45 6,87 / ± 0,23
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Erbsen- und Unkrautrhizosphäre	15 5,27 / ± 0,33	15 4,67 / ± 0,34	15 2,87 / ± 0,30	45 4,27 / ± 0,24
		in der Erbsenrhizosphäre	15 7,73 / ± 0,32	15 7,07 / ± 0,29	15 5,27 / ± 0,27	45 6,69 / ± 0,23
		in der Unkrautrhizosphäre	15 7,27 / ± 0,32	15 6,87 / ± 0,29	15 5,00 / ± 0,27	45 6,38 / ± 0,22
			75 6,77 / ± 0,19	75 6,04 / ± 0,18	75 4,33 / ± 0,19	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Effekt der parasitär bewohnten Wurzel zu beruhen. Die fördernde Wirkung in der Rhizosphäre der Pflanzen ist unabhängig vom parasitären Befall. Andererseits steigt die Förderung mit der Anfälligkeit der Pflanzenart.

Der Unterschied in der Pilzförderung durch nichtanfällige Pflanzen einerseits und Wirtspflanzen andererseits, soll noch an einigen Beispielen gezeigt werden. Wie der Vergleich der entsprechenden Tabellen zeigt, liegt der Mittelwert der je Bodenprobe aller drei Böden in der Rhizosphäre von Kartoffeln gefundenen Anzahl Sklerotien (Tab. 15), mehr als doppelt so hoch wie der für Roggen (Tab. 6), der von den untersuchten nichtanfälligen Kulturpflanzen am wenigsten fördernd war. Der Mittelwert für Kartoffeln liegt aber auch noch um etwa 60 % höher als der für Mais (Tab. 8), welcher unter den nichtanfälligen Kulturpflanzen am meisten anreicherte. Schließlich ist die Rhizosphäre der Kartoffelpflanzen fast viermal so fördernd für

R. solani wie der undurchwurzelte Boden mit Roggen bepflanzter Töpfe. Das zeigt wohl eindrucksvoll, wieviel mehr die Wirtspflanzen ihren Parasiten anreichern als nichtanfällige Pflanzen.

Auch bei der Bestimmung der Keimstellen für die Erdproben aus dem undurchwurzelten Bodenanteil der mit Wirtspflanzen bewachsenen Töpfe ergeben sich interessante Ergebnisse. In dem Maße, wie die Rhizosphären der einzelnen Wirtspflanzen den Pilz mehr oder weniger anreichern, wird er auch im undurchwurzelten Boden derselben Töpfe, allerdings immer etwa um die Hälfte weniger, angereichert. Je Bodenprobe wurde nämlich im undurchwurzelten Bodenanteil mit Gartenbohnen bepflanzter Töpfe im Durchschnitt aller drei Bodenarten wieder die relativ geringste Anzahl Sklerotien gefunden. Der entsprechende Bodenanteil mit Kartoffeln bepflanzter Töpfe brachte die höchste Anzahl.

Tabelle 14

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Tomaten und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Waldboden	Komposterde	Auelehm	$n \frac{M}{m}$
			$n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$	$n \frac{M}{m}$	
Boden mit Tomaten bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Tomatenrhizosphäre	$15 \frac{5{,}87 \pm 0{,}28}$	$15 \frac{4{,}67 \pm 0{,}26}$	$15 \frac{2{,}93 \pm 0{,}27}$	$45 \frac{4{,}49 \pm 0{,}24}$
		in der Tomatenrhizosphäre	$15 \frac{8{,}27 \pm 0{,}31}$	$15 \frac{7{,}33 \pm 0{,}31}$	$15 \frac{5{,}07 \pm 0{,}27}$	$45 \frac{6{,}89 \pm 0{,}26}$
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Tomaten- und Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{5{,}60 \pm 0{,}30}$	$15 \frac{5{,}00 \pm 0{,}28}$	$15 \frac{2{,}60 \pm 0{,}28}$	$45 \frac{4{,}40 \pm 0{,}25}$
		in der Tomatenrhizosphäre	$15 \frac{7{,}93 \pm 0{,}33}$	$15 \frac{6{,}73 \pm 0{,}31}$	$15 \frac{5{,}60 \pm 0{,}25}$	$45 \frac{6{,}75 \pm 0{,}23}$
		in der Unkrautrhizosphäre	$15 \frac{7{,}47 \pm 0{,}26}$	$15 \frac{7{,}00 \pm 0{,}28}$	$15 \frac{5{,}40 \pm 0{,}22}$	$45 \frac{6{,}62 \pm 0{,}20}$
			$75 \frac{7{,}03 \pm 0{,}18}$	$75 \frac{6{,}15 \pm 0{,}18}$	$75 \frac{4{,}32 \pm 0{,}19}$	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Tabelle 15

Ergebnisse der Versuche über die Förderung des Wachstums von *Rhizoctonia solani* durch die Bepflanzung des Bodens mit Kartoffeln und durch die Rhizosphäre von Unkräutern.

Der Effekt ist an der Anzahl Keimstellen (Sklerotien) ermessen, die jeweils in 10 ccm Erde gefunden wurden

II. Auswertung			Wald-boden	Kompost-erde	Auelehm	n M/m
			n M/m	n M/m	n M/m	
Boden mit Kartoffeln bepflanzt	unkrautfrei	außerhalb der Kartoffel-rhizosphäre	15 6,13 ± 0,32	15 5,33 ± 0,28	15 3,47 ± 0,26	45 4,98 ± 0,24
		in der Kartoffel-rhizosphäre	15 9,53 ± 0,31	15 8,27 ± 0,32	15 6,13 ± 0,32	45 7,98 ± 0,28
	mit Unkraut bewachsen	außerhalb der Kartoffel- und Unkraut-rhizosphäre	15 6,80 ± 0,29	15 5,87 ± 0,26	15 4,00 ± 0,28	45 5,56 ± 0,24
		in der Kartoffel-rhizosphäre	15 8,80 ± 0,27	15 7,47 ± 0,28	15 6,93 ± 0,31	45 7,73 ± 0,20
		in der Unkraut-rhizosphäre	15 7,87 ± 0,28	15 6,80 ± 0,21	15 5,67 ± 0,22	45 6,78 ± 0,19
			75 7,83 ± 0,20	75 6,75 ± 0,17	75 5,24 ± 0,20	

n = Anzahl der Bodenproben in der Versuchsfraktion; M = Mittelwert der Anzahl Sklerotien in der Versuchsfraktion; m = Mittlerer Fehler des Mittelwertes.

Die Keimzahlen für die übrigen untersuchten Pflanzen lagen zwischen diesen beiden Werten. Erheblich sind vor allem, wie schon bei den Versuchen mit Rüben, die prozentualen Unterschiede, die sich bei dem Vergleich der Anzahl der gefundenen Keimstellen je Bodenprobe aus dem undurchwurzelten Bodenanteil einerseits mit Wirtspflanzen und andererseits mit nichtanfälligen Kulturpflanzen bewachsener Töpfe ergeben. Der entsprechende Wert für Töpfe, die mit Kartoffeln bepflanzt waren, lag im Durchschnitt für alle drei Bodenarten etwa doppelt so hoch wie der für Töpfe, die mit Roggen bepflanzt waren und noch 50 % über dem der Mais-Töpfe. Diese Ergebnisse lassen auch erkennen, daß, im Durchschnitt der Werte für alle drei Böden, der undurchwurzelte Boden von Kartoffel-Töpfen den Pilz noch um die Hälfte mehr anreicherte, als die Rhizosphäre von Roggenpflanzen. Das zeigt wohl recht eindeutig, um wieviel stärker und weitreichender die fördernde

Wirkung der Wirtspflanzenrhizosphären als die der Gramineen ist, wobei immer wieder betont werden muß, daß die Förderung unabhängig vom tatsächlichen Befall der anfälligen Pflanze, ob befallen oder nicht befallen, eintritt. Aus den Unterschieden zwischen der Pilzförderung im undurchwurzelten Boden der mit anfälligen bzw. nichtanfälligen Kulturpflanzen bewachsenen Töpfe ist ersichtlich, daß bei allen untersuchten Wirtspflanzen die durch sie bewirkte Förderung des Wachstums von *R. solani* im Boden nicht auf die Rhizosphäre beschränkt bleibt. Zumindest das Mehr an gefundenen Keimstellen je Bodenprobe aus dem undurchwurzelten Bodenanteil mit Wirtspflanzen bewachsener Töpfe gegenüber mit Gramineen bepflanzter Töpfe muß auf einer Wirkung der Wirtspflanzenrhizosphäre auf den sie umgebenden Boden beruhen.

Das saprophytische Wachstum von *R. solani* in der Rhizosphäre von Unkräutern scheint von den Rhizosphären der Wirtspflanzen her zusätzlich begünstigt zu werden. Die Zahlen für die als *R. solani* ermittelten Keimstellen in der Unkrautrhizosphäre waren durch gleichzeitig in den Töpfen wachsende Kulturpflanzen vermehrt. Die Werte lagen nämlich wieder 20 bis 40 % über denen aus der Unkrautrhizosphäre von Töpfen, die mit nicht parasitär befallenen Weizen-, Gerste- oder Roggenpflanzen bewachsen waren. Die andere Möglichkeit, daß diesen Unterschieden die Ergebnisse von Bodenproben aus der Rhizosphäre verschieden stark fördernder Unkräuter zugrunde liegen, ist nicht wahrscheinlich. Einmal handelt es sich bei den Unkräutern, die im Zusammenhang mit den verschiedenen Wirtspflanzen wuchsen, jeweils um die gleichen Arten, wobei diese Gleichheit durch zusätzliches Einpflanzen von Unkräutern zu Beginn der Versuche erreicht wurde. Zum anderen lagen wieder jedesmal die in den einzelnen Versuchsfraktionen gefundenen Werte für Bodenproben aus den Rhizosphären verschiedener Unkrautarten eng beieinander.

Die verschiedenen Böden waren wieder, wie schon bei der ersten Versuchsserie, als saprophytisches Substrat geeignet. Die gefundenen Werte lagen bei allen Versuchsfraktionen in Komposterde 20 bis 40 % und in der rohhumusreichen Walderde 40 bis 60 % über denen in Auelehm.

Bei der Untersuchung der zu den beiden Versuchsserien angesetzten Kontrolltöpfe, die mit anfälligen bzw. nichtanfälligen Kulturpflanzen bepflanzt, aber nicht beimpft waren, verliefen alle Isolationsversuche negativ. Ebenso waren sie bei allen unbepflanzt und unbeimpft aufgestellten Kontrolltöpfen ergebnislos. In keinem Fall konnte der Pilz in der Rhizosphäre der Pflanzen oder im freien Boden der Töpfe nachgewiesen werden. Es mußte also alles verwendete Saatgut *Rhizoctonia*-frei gewesen sein. Es kann auch als gesichert angesehen werden, daß während der Versuche kein Pilzmaterial von außen in die Töpfe gekommen sein konnte.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die hier untersuchten Wirtspflanzen des Pilzes ihren eigenen Parasiten im Boden anreichern, indem sie ihn in ihrer Rhizosphäre gegenüber seinen Antibionten begünstigen. Für das Anreichern des Pilzes ist der parasitäre Befall der Pflanzen keine notwendige Voraussetzung. Hier scheint eine Ursache für die Tatsache gefunden, daß

einerseits der Pilz im Boden weit verbreitet ist, andererseits aber *Rhizoctonia*-Krankheiten nicht dementsprechend häufig sind.

Von den untersuchten Wirtspflanzen des Pilzes reichern ihn Kartoffeln am meisten, Gartenbohnen am wenigsten, aber immer noch wesentlich mehr als die untersuchten Getreidearten, im Boden an. Auch von den untersuchten Vertretern einer Pflanzenfamilie, wird der Pilz nicht einheitlich gefördert.

Keine dieser Wirtspflanzen beschränkt die pilzfördernde Wirkung auf ihre eigene Rhizosphäre. Sie begünstigen auch das Wachstum des Pilzes im undurchwurzelten Boden und wie es scheint, sogar in der Rhizosphäre gleichzeitig in den Versuchsgefäßen wachsender, nichtanfälliger Unkräuter, die den Pilz wieder nur in ihrer eigenen Rhizosphäre fördern. Die Begünstigung seines Wachstums in der Rhizosphäre der Wirtspflanzen ermöglicht dem Pilz eine beschränkte Erhaltung im Boden, unabhängig von der Lebensdauer der Sklerotien, die gewöhnlich durch Antibionten am Auskeimen gehindert werden. Die Sklerotien werden auswachsen und sogar vermehrt werden, sobald sie in die Rhizosphäre einer der untersuchten Wirtspflanzen, Getreidearten oder Unkräuter gelangen, sie werden sogar auskeimen, wenn sie nur in die nähere Umgebung einer der Wirtspflanzen kommen.

3. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Probleme des Saprophytenlebens unseres „Wurzeltöters", des Pilzes *Rhizoctonia solani,* beginnen mit dem Sterben und Verwesen der von ihm parasitär bewohnten Wirtspflanze, im häufigsten Falle der Kartoffelstaude. Es ist unwahrscheinlich, daß der Pilz in Hyphen- oder Sporenform überdauert, denn die Hyphen und Sporen sind sehr kälteempfindlich. Das Sklerotium ist die eigentliche Überdauerungsform. Das Saprophytendasein des Pilzes muß von diesem Organ ausgehen.

Aus gut belegter eigener Erfahrung muß einer These, die in der Literatur zu finden ist, widersprochen werden. Der Wurzeltöterpilz *R. solani* kann im Boden saprophytisch leben, wachsen und, wie K. O. MÜLLER es schon 1924 beschrieben hat, Sklerotien bilden. Es ist wahrscheinlich, daß die Böden sich umso besser als saprophytisches Substrat unseres Pilzes eignen, je mehr Rohhumus sie enthalten. Damit ist nicht gesagt, daß der Rohhumus ein besonders geeigneter Nährstoff sei. Er ist vielleicht der Indikator eines Bodenzustandes, bei dem Antibionten der *R. solani* keine derartig zusagenden Bedingungen finden wie in Böden mit mildem Humus oder in hochkultivierten Böden, in denen die humusbildenden Massen völlig zersetzt und veratmet werden. Solche Böden sind im natürlich belebten Zustand weniger gute saprophytische Substrate unseres Pilzes. Er wächst aber auf fast allen Böden, wenn sie ihm nach Sterilisation unbelebt angeboten werden. Der Pilz wird also im saprophytischen Vorkommen und Leben ständig antibiotisch behindert.

R. solani erfährt jedoch auch Förderungen, und zwar von den Wurzeln höherer Pflanzen, die sein Biotop mitbewohnen. Von den Wurzeln dieser Pflanzen geht eine stoffliche Wirkung aus, die den Wurzeltöter gegen die

Antibionten schützen oder seine Resistenz gegen die Antibionten fördern muß. Die Wirkung ist unmittelbar in der Rhizosphäre am stärksten, kann aber auch darüber hinaus in den Boden hineinreichen.

Die Rhizosphärenwirkung ist von der Substrateignung des Bodens für den Pilz und von Arteigenschaften der wurzelnden Pflanze abhängig. In drei Böden, die zufällig frei von *R. solani* waren, habe ich in jeweils 30 Untersuchungen im Herbst und im darauffolgenden Frühjahr, also in insgesamt 60 Untersuchungen je Boden, keine Spuren von *R. solani* gefunden. Die drei Böden wurden mit dem Pilz beimpft und hatten dann später unter gleichen Bedingungen in jeweils 30 Untersuchungen

3,04, 2,47 und 1,87

Sklerotien in 10 ccm Boden (vgl. Tab. 2), was die reine Substrateignung der Böden zum Ausdruck bringt. In denselben Böden konnten unter sonst gleichen Bedingungen in den Rhizosphären von Kulturpflanzen in jeweils 180 Untersuchungen

6,74, 5,86 und 4,50

Sklerotien in 10 ccm Bodensubstanz gefunden werden. In den Rhizosphären von Unkräutern waren unter sonst gleichen Bedingungen die Fundzahlen

6,82, 6,12 und 4,95

Sklerotien in 10 ccm Bodensubsatnz. Die Gegensätze der zweiten und dritten Zahlenreihe zur ersten bringen die Rhizosphärenwirkungen zum Ausdruck.

Wie die Beobachtungen der Rhizosphärenwirkung statistisch gesichert sind, läßt folgende Gegenüberstellung von Zahlen erkennen. Es handelt sich darum, daß 216 Kulturtöpfe, die in drei Gruppen die drei verschiedenen Böden enthielten, Bewuchs mit verschiedenen Kulturpflanzen und zur Hälfte auch mit Unkräutern hatten. Jeweils fünf Bodenproben aus den Rhizosphären der Kulturpflanzen (KR), aus den Rhizosphären der Unkräuter (UR) und aus dem Boden außerhalb der Rhizosphären (—R) sind einzeln auf Vorkommen von Sklerotien untersucht worden. Aus der statistischen Auswertung sind — unabhängig von der Bodenwirkung und unabhängig von dem Unterschied der Rhizosphärenwirkung verschiedener Kulturpflanzen — folgende Zahlen zum Vergleich zu stellen:

(KR)	(UR)	(—R)
$n = 1080$	$n = 540$	$n = 1080$
$M = 5{,}65$	$M = 5{,}96$	$M = 3{,}65$
$m = \pm 0{,}058$	$m = \pm 0{,}063$	$m = \pm 0{,}048$
$\sigma = \pm 1{,}89$	$\sigma = \pm 1{,}47$	$\sigma = \pm 1{,}59$

Aus dem Vergleich geht zunächst als gesichert hervor, daß an der Rhizosphärenwirkung sowohl der Kulturpflanzen als auch der Unkräuter nicht gezweifelt werden kann. Beim Vergleich der Zahlen fällt aber nun folgendes auf: Die Fundzahlen aus den Unkrautrhizosphären (UR) haben eine kleinere Standardabweichung als die Fundzahlen aus den Rhizosphären der Kulturpflanzen (KR) und aus den Bodenteilen außerhalb der Rhizosphären (—R), obgleich die Variantenanzahl nur die Hälfte war, d. h., die Fluktuation war

in der Unkrautrhizosphäre kleiner als in den beiden anderen Varianten. Wie ist dieses zu erklären?

Zunächst (UR) gegen (—R)! Die Variation (—R) muß eine relativ große Fluktuation haben, weil sie bei verhältnismäßig niedrigen Fundzahlen die Unterschiede der Substratwirkung verschiedener Böden enthält. Die mittleren Fundzahlen der drei Böden waren 4,53; 3,67 und 2,76 bei einer gemeinsamen Fundzahl von 3,65. Demgegenüber erhöhte die Rhizosphärenwirkung der Unkräuter die mittleren Fundzahlen der drei Böden auf 6,82; 6,12 und 4,95 und auf eine gemeinsame Fundzahl von 5,96, d. h. mit der größeren gemeinsamen mittleren Fundzahl ist die Fluktuation vermindert worden, hat die Rhizosphärenwirkung der Unkräuter die Tendenz, die Bodenunterschiede zu verdecken.

Was bedeutet aber die Erhöhung der Standardabweichung, d. h. der Fluktuation, von (KR) gegen (UR) und auch gegen (—R)? Und was bedeutet der kleinere Mittelwert M von (KR) gegen den größeren von (UR)? Ist die Rhizosphärenwirkung der Unkräuter größer als die der Kulturpflanzen? Die zuletzt gestellte Frage kann man mit „ja" und mit „nein" beantworten! Die Rhizosphärenwirkung der Unkräuter ist nach den bisherigen Beobachtungen an mehr oder weniger zufällig in den Versuch gekommenen Unkräutern ziemlich ausgeglichen und scheinbar unabhängig von der Verschiedenheit der Arten. Demgegenüber ist die Rhizosphärenwirkung der Kulturpflanzenarten sehr unterschiedlich. Ihre Variation fluktuiert sehr stark, was schon allein eine höhere Standardabweichung bedingt. Dann kommt etwas hinzu, was aus den Tabellen nur mit sehr viel Mühe zu erkennen ist: Die Rhizosphärenwirkung der Kulturpflanzenarten hat eine um so stärkere Fernwirkung in den Boden und auch in die Rhizosphären der Unkräuter hinein, je stärker ihre eigene ist. Diese Interferenz gibt der Unkrautrhizosphäre eine Wirkung, die sie allein nicht hat. Eine entsprechende Fernwirkung der Unkrautwurzeln habe ich bisher nicht beobachten können. Sie wirken nach bisher möglichen Beobachtungen nur in ihren Rhizosphären.

Die unterschiedliche Rhizosphärenwirkung und Fernwirkung der Kulturpflanzen bilden eine Reihe steigender Werte, die unten mit den nicht parasitär anfälligen Gramineen beginnt, mit den fakultativ anfälligen Betarüben und Hülsenfrüchten steigt und in den Tomaten und schließlich im Prototyp der parasitär bewohnten Wirtspflanze des Wurzeltöters, in der Kartoffelstaude die Höchstwerte erreicht. Wie die Rhizosphärenwirkung in steigendem Maße mit der Anfälligkeit der Kulturpflanze zusammenhängt, kann noch nicht gesagt werden. Nur eines ist gewiß, daß sie unabhängig davon funktioniert, ob der Befall der anfälligen Pflanze zustande kommt oder nicht.

Zusammenfassung

Der „Wurzeltöter" *Rhizoctonia solani* kann im Boden saprophytisch leben, wachsen und Sklerotien bilden, wird aber dabei durch Antibionten ständig behindert. Die Ergebnisse meiner Versuche lassen erkennen, daß der „Wurzeltöter" neben der Behinderung seines saprophytischen Wachstums

durch Antibiose auch Begünstigungen erfährt, und zwar durch eine von den Wurzeln höherer Pflanzen ausgehende stoffliche Wirkung, die seine Resistenz gegen die Antibionten fördert oder ihn gegen seine Antibionten schützt. Diese Wirkung ist in der Rhizosphäre der Pflanzen am stärksten, sie kann sich aber auch auf den umgebenden undurchwurzelten Boden erstrecken.

Die Rhizosphärenwirkung der untersuchten Kulturpflanzen erweist sich abhängig von den verschiedenen Arteigenschaften der Pflanzen und von der Substrateignung der Böden für den Pilz. Die Eignung eines Bodens als saprophytisches Substrat für *R. solani* ist dabei wohl von seinem Gehalt an Rohhumus, der vielleicht Indikator eines den Antibionten des Pilzes wenig zusagenden Bodenzustandes ist, abhängig.

Die Förderung des Pilzes ist in der Rhizosphäre der nichtanfälligen Gramineen am geringsten, sie steigt bei den fakultativ anfälligen Betarüben und Hülsenfrüchten und erreicht ihre höchsten Werte bei den Tomaten und in der Kartoffel, dem Prototyp der Wirtspflanze. Die untersuchten Kulturpflanzen fördern aber den „Wurzeltöter" nicht nur in ihren Rhizosphären. Die Rhizosphärenwirkung der Kulturpflanzenarten hat eine um so stärkere Fernwirkung in den Boden und auch in die Rhizosphären der Unkräuter hinein, je stärker ihre eigene ist. Die symbiotische Förderung des saprophytischen Lebens von *R. solani* erfolgt aber in jedem Falle unabhängig davon, ob es zum parasitären Befall der anfälligen Pflanzen kommt oder nicht. Hier scheint eine Ursache für die bekannte Tatsache gefunden, daß der Pilz im Boden weit verbreitet ist, aber *Rhizoctonia*-Erkrankungen nicht dementsprechend häufig sind. Andererseits steigt die Förderung mit der Anfälligkeit der Pflanzenarten, was in seiner Bedeutung noch ungewiß bleibt.

Anders verhalten sich die untersuchten Unkräuter, die sich alle als nicht anfällig für *R. solani* erwiesen. Die Versuche zeigen, daß ihre fördernde Wirkung auf den Pilz zwar abhängig von der unterschiedlichen Substrateignung der Böden, aber unabhängig von der Verschiedenheit der Unkrautarten ist und auf ihre Rhizosphären beschränkt bleibt. Die von den Wurzelbereichen der Kulturpflanzen ausgehende Fernwirkung kann den Unkrautrhizosphären allerdings eine Wirkung geben, die sie allein nicht haben. In jedem Falle muß aber auch in dem Verunkrauten des Ackers ein nicht unbeträchtlicher Faktor der Bodenverseuchung gesehen werden.

Für die Themenstellung und für die ständige Unterstützung möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Wartenberg meinen besonderen Dank aussprechen.

Summary

Potato root rot, *Rhizoctonia solani*, can live saprophytically, grow and form Sclerotia in the soil, though its development is constantly retarded by antibionts. The results of my experiments show that the fungus, in addition to the suppression of its saprophytic growth by antibiosis, may also be stimulated, namely by the action of some substance that is released by the

roots of higher plants, which stimulates its resistance to the antibionts or protects it from its own antibionts. This effect is strongest in the rhizosphere of the plants but may extend into the surrounding soil that contains no roots.

The activity of the rhizosphere of the cultivated plants investigated proves to be dependent on the various properties of the species in question and on the suitability of the soils as a substrate for the fungus. The suitability of a soil as a saprophytic substrate for *R. solani* is influenced by its raw humus content, which may possibly be an indicator of a soil condition unfavourable to the antibionts of the fungus.

The stimulation of the fungus is least in the rhizospheres of the *Gramineae* which are not susceptible, and rises progressively in the facultatively susceptible *Beta* forms and the legumes, reaching a maximum in tomatoes and in the prototype of the host plant, the potato. The crop plants studied do not, however, stimulate the fungus only in their rhizospheres. The rhizosphere activity of the species of cultivated plants penetrates into the soil and into the rhizospheres of weeds to a progressively greater extent as its own activity increases. The symbiotic stimulation of the saprophytic life of *R. solani* is, however, in all cases independent of whether it comes to a parasitic infection on susceptible plants or not. This would seem to provide an explanation of the well known fact that the fungus is widely distributed in the soil but yet *Rhizoctonia* diseases are not correspondingly prevalent. On the other hand the stimulation increases with the susceptibility of the plant species, the significance of which fact still remains obscure.

The behaviour of the weed species investigated, all of which proved susceptible to *R. solani*, is otherwise. The investigations showed that although their stimulating effect on the fungus is depending on the varying suitability of the soil as a substrate, it is nevertheless independent of the species of weed and is confined to their rhizospheres. The activity that extends from the root zones of cultivated plants can, however, impart a certain activity to the weed rhizospheres, which alone they would not possess. In any case weed development in a field must be regarded as a not inconsiderable factor in soil infestation.

Literaturverzeichnis

(Die mit * versehenen Arbeiten lagen nur im Referat vor.)

APPEL, O., 1918: Die *Rhizoctonia*-Krankheit der Kartoffel. Dtsch. Landw. Presse **45**, 449.

BLAIR, I. D., 1943: Behaviour of the fungus *Rhizoctonia solani* in the soil. Ann. appl. biol. **30**, 118—127.

BRAUN, H., 1930: Der Wurzeltöter der Kartoffel. Monographie zum Pflanzenschutz. Verlag Springer, Berlin.

BRUEHL, G. W., 1951: *Rhizoctonia solani* in relation to cereal crown and root rots. Phytopathology **41**, 21—24.

CANDOLLE, A. P. DE, 1815: Memoire sur les rhizoctones, nouveau genre de champignons qui attaque les racines des plantes et en particulier celle de la luzerne cultivée. Mem. mus. hist. nat. **2**, 209—216.

Frank, A. B., 1898: Untersuchungen über die verschiedenen Erreger der Kartoffelfäule. Ber. dt. Bot. Ges. **16**, 272—289.

Herzog, W., und H. Wartenberg, 1958: Untersuchungen über die Lebensdauer der Sklerotien von *Rhizoctonia solani* (Kühn) im Boden. Phytopath. Z. **33**, 291—315.

— —, und — —, 1960: Der Konservierungseffekt antibiotischer Mikroorganismen an den Sklerotien von *Rhizoctonia solani* (Kühn). Ber. dt. Bot. Ges. **73**, 346—348.

Hofferbert, W., und H. Orth, 1951: Unsere Arbeiten über *Rhizoctonia*-Fragen bei Kartoffeln. Z. Pflanzenkrankh. **58**, 245—255.

Huber, J., 1956: Untersuchungen über die schädigende Wirkung des *Rhizoctonia*-Befalls der Kartoffelstaude. Phytopath. Z. **27**, 73—82.

Kühn, J., 1859: Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre Verbreitung. Verlag Bosselmann, Berlin.

— —, 1889: Über den Schorf und die Pockenkrankheit der Kartoffel. Z. landw. Zverl. Sachsen.

Leveillé, J. H., 1843: Memoire sur le genre *Sclerotium*. Ann. sci. nat. bot. **20**, 218—248.

Matsumoto, T., 1921: Physiological specialisation in *Rhizoctonia solani* Kühn. Ann. Miss. bot. gard. **8**, 1—62.

*— —, 1924: Supplementary note on the enzyme activity of *Rhizoctonia solani* Kühn. Bull. Imp. coll. agric. forestry Morioka **8**, 1—13.

Meyer von Gregory, R., und H. Wartenberg, 1958: Untersuchungen über den Parasitismus von *Erwinia phytophthora* (Appel) Holland. Phytopath. Z. **32**, 257—282.

Müller, K. O., 1924: Untersuchungen zur Entwicklungsgeschichte und Biologie von *Hypochnus sol.* P. u. D. (*Rhizoctonia solani*). Arb. Biol. Reichsanst. Land- und Forstwirtschaft **13**, 197—262.

*Oakley, R. A., 1924: Brown-patch investigation. Bull. green sect. U. S. golf assoc. **4**, 87—92.

Peltier, G. L., 1916: *Rhizoctonia* in America. Phytopathology **4**, 406.

Richter, H., und R. Schneider, 1950: Untersuchungen zur *Rhizoctonia*-Anfälligkeit der Kartoffelsorten. Züchter **20**, 257—267.

Rolfs, F. M., 1905: Report of horticulturist. Florida agric. exper. stat. rep. 1905, 46—47.

Rümker, R. v., 1952: Über die Ökologie von *Ascochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der Rhizosphäre anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen. Phytopath. Z. **18**, 55—100.

Sanford, G. B., 1941: Studies on *Rhizoctonia solani* V. Canad. res. Ser. C **19**, 1—10.

— —, 1952: Persistence of *Rhizoctonia solani* in soil. Canad. j. bot. **30**, 652—664.

Warcup, J. H., 1955: Isolation of fungi hyphae present in soil. Nature **175**, 953—954.

Winter, A. G., 1950: Untersuchungen über die Ökologie von *Rhizoctonia solani* im natürlichen Boden. Nachr.-Bl. Dtsch. Pflanzenschutzdienst (Braunschweig) **2**, 8—9.

— —, und R. v. Rümker, 1949: Die Bedeutung der Mikroflora der wurzelnahen Zone für die Resistenz von Wurzeln gegen Pilzkrankheiten. Naturwissenschaften **36**, 30—31.

Biologische Bundesanstalt, Institut für gärtnerische Virusforschung Berlin-Dahlem

Eine für Deutschland neue Virose bei *Vaccinium myrtillus*

Von

H. A. Uschdraweit

Mit 2 Abbildungen

Kürzlich berichtete L. Bos über eine Hexenbesenkrankheit der Heidelbeere in Holland, die durch ein Virus hervorgerufen wird. Untersuchungen, die am Institut für gärtnerische Virusforschung in Berlin-Dahlem durchgeführt wurden, bestätigen die Ergebnisse von L. Bos und ergänzen sie für den deutschen Raum.

Das Material, von dem die Dahlemer Versuche ausgingen, wurde im September 1958 in der Gegend von Groß-Heubach am Main, Kreis Miltenberg, gesammelt. In den ausgedehnten Heidelbeerenbeständen, die sich in den lichten Wäldern auf den Hängen des Spessarts finden, fielen Flächen von mehreren Quadratmetern auf, deren Pflanzen sich durch einen völlig veränderten Habitus auszeichneten. Diese Areale mit einem ausgesprochenen Kümmerwuchs sind besonders zahlreich auf den westlichen Hängen zwischen Klotzenhof und dem Kloster Engelberg. Während die normalen Pflanzen eine Höhe von 30 cm und mehr erreichen, sind die kranken Pflanzen höchstens 10 cm hoch. Die Blätter der gesunden Pflanzen unterscheiden sich in Größe (etwa 20 mm lang und 10 mm breit) und in ihrer lebhaft dunkelgrünen Farbe von den nur etwa 5 mm langen, manchmal fast rundlichen, rötlich-, gelblich- oder bräunlichgrünen Blättchen der gestauchten Pflanzen. Besonders aber fällt die Abweichung des Wuchses auf. Während die normalen Pflanzen einen lockeren sparrigen Aufbau zeigen, stehen die kurzen Triebe der abweichenden Pflanzen steif aufrecht, sind kaum verzweigt und tragen die Blättchen in sehr kurzen Abständen und regelmäßiger Verteilung; überdies ist die Zahl der Triebe stark vermehrt. Dadurch entsteht das typische Bild des Hexenbesenwuchses (Abb. 1). Die normalen Pflanzen werfen die Blätter im Herbst ab, während die kranken das Laubwerk bis in den Winter hinein behielten. Fruchtansatz konnte bei den kranken Pflanzen nicht beobachtet werden. Auch während der Sommer 1959 und 1960 zeigte sich bei den in Dahlem in Töpfen weiter kultivierten Pflanzen keinerlei Blütenbildung, während das gesunde Vergleichsmaterial in Töpfen blühte und fruchtete.

Abb. 1. Hexenbesenkranke Heidelbeere
(Photo: E. Schälow, Biologische Bundesanstalt Berlin-Dahlem)

Abb. 2. Heidelbeere nach Pfropfung mit hexenbesenkrankem Reis. Die jungen Triebe zeigen den typischen Kümmerwuchs (Photo: E. Schälow, Biologische Bundesanstalt Berlin-Dahlem)

Das allgemeine Krankheitsbild legte den Gedanken nahe, daß hier eine Viruskrankheit vorlag. Die Symptome deuteten auf eine nicht mechanisch übertragbare Virose; doch wurden mehrfach Übertragungsversuche auf einer Reihe von Testpflanzen angesetzt, die aber erfolglos blieben. Im Frühjahr 1960 wurden Pfropfversuche vorgenommen, wobei als gesunde Unterlage *Vaccinium-myrtillus*-Pflanzen verwendet wurden, die aus dem Spandauer Forst stammten. Die technische Durchführung war recht schwierig, da die dünnen Triebe der kranken Pflanzen kaum 1/2 mm stark sind. Die Pfropfungen wurden meist als seitliche Spaltpropfungen durchgeführt. Je Pflanze wurden am 12. und 25. Mai 1960 zwei bis drei kranke Reiser aufgesetzt, doch blieben diese Reiser nur wenige Wochen leben. Erfolgreicher war eine zweite Pfropfung am 15. August, bei der mehrere Reiser anwuchsen. Im September/Oktober zeigte der Durchtrieb bei zwei Pflanzen Seiten- und Bodentriebe mit allen wesentlichen Merkmalen der Hexenbesenkrankheit, so daß die Virusnatur dieser Erscheinung damit feststeht (Abb. 2).

Ein Vergleich der Krankheitsbeschreibung und der Abbildungen in der Arbeit von L. Bos und in den Meldungen von Blattny mit den Dahlemer Resultaten läßt kaum einen Zweifel an der Identität der hier beschriebenen Krankheiten bestehen. Wie weit diese europäische Virose mit den *Vaccinium*-Virosen „cranberry false blossom disease" und „blueberry stunt disease" übereinstimmt, ist noch ungewiß. Beide Virosen wurden nach Smith bisher nur aus Amerika gemeldet. Doch kommt nach Humble auch in England eine Stauchekrankheit bei Kulturheidelbeeren vor, über deren Beziehung zu einer der bisher beschriebenen Virosen noch keine Untersuchungen vorliegen. Versuche mit übertragenden Insekten wurden in Europa noch nicht angestellt und auch der Wirtspflanzenkreis ist noch nicht erforscht.

Nach Blattny ist die Hexenbesenkrankheit der Heidelbeere in wilden Beständen „gefährlich verbreitet"; unsere eigenen Beobachtungen lassen noch keinen Schluß auf eine größere wirtschaftliche Bedeutung zu. Blattny hat aber ferner beobachtet, daß verdächtige Erscheinungen ähnlicher Art auch auf der Preiselbeere (*Vaccinium vitis-idaea*) und auf dem Heidekraut (*Calluna vulgaris*) vorkommen. Es wäre daher wichtig, den Wirtpflanzenkreis der Hexenbesenkrankheit zu bestimmen und zu untersuchen, ob auch andere Vertreter der *Ericaceae* von ihr befallen werden können. Zu der Gattung *Vaccinium* gehören außer der Heidelbeere die als Wildfrüchte geschätzten Preiselbeeren (*V. vitis-idaea*) und Moosbeeren (*V. oxycoccos*) und die in den letzten Jahren sehr propagierten Kulturheidelbeeren. Die Familie der *Ericaceae* enthält außerdem gärtnerisch so wichtige Gattungen wie *Rhododendron, Kalmia, Erica* und *Calluna*.

Zusammenfassung

Es konnte durch Pfropfung nachgewiesen werden, daß eine Hexenbesenkrankheit von *Vaccinium myrtillus*, die im Spessart vorkommt, durch ein Virus hervorgerufen wird. Diese Virose ist wahrscheinlich identisch mit der

Hexenbesenkrankheit, die Blattny in Böhmen und Bos in Holland gefunden haben. Überträger, Wirtspflanzenkreis und die Verwandtschaft mit anderen *Vaccinium*-Virosen sind noch nicht bekannt.

Summary

A witches' broom disease of *Vaccinium myrtillus* was found in the Spessart (North Bavaria). Its virus nature has been demonstrated by grafting experiments. It seems to be identical with witches' broom diseases, recorded from Bohemia by Blattny and from the Netherlands by L. Bos. Vectors, host range and relationship to other virus diseases of the genus *Vaccinium* are still unknown.

Literaturverzeichnis

Blattny, C., 1955, 1956: Einige Ergebnisse der pflanzlichen Virusforschung in der tschechoslowakischen Republik. Kongreßber. Pflanzenschutzkongr. Berlin, 47—65.

Bos, L., 1960: A witches' broom virus disease of *Vaccinium myrtillus* in the Netherlands. T. Pl.ziekten **66**, 219—263.

Humble, G. C. T., 1960: Years' Experience of the High Bush Blueberry. Gard. Chron. **148**, 273.

Smith, K. M., 1957: A textbook of plant virus diseases. J. D. A. Churchill Ltd.

Kurze Mitteilung

Aus dem Institut für Phytopathologie und Pflanzenschutz der Universität Rostock

Direktor: Prof. Dr. E. Reinmuth

Über die Beeinflussung von *Plasmodiophora brassicae* Wor. durch Mineralsalze

Von

H. Bochow

Verschiedene Untersuchungsergebnisse weisen darauf hin, daß der mineralische Nährstoffgehalt eines Mediums die Wurzelhaarinfektionsrate von *Plasmodiophora brassicae* Wor. beeinflußt. In Wasserkulturen mit einer modifizierten Hoagland-Nährlösung, der Dauersporen des *Plasmodiophora*-Pilzes zugesetzt wurden, fand Macfarlane (1958) an jungen Kohlpflanzen eine unterschiedliche Infektionsintensität, die in Abhängigkeit von der Konzentration der Nährlösung stand. Im Durchschnitt seiner Versuche lag die Wurzelhaarinfektionsrate in einer auf $^1/_5$ oder $^1/_{25}$ verdünnten Nährlösung höher als in einer auf $^1/_{125}$ verdünnten oder 5fach konzentrierten Lösung. Eigene Untersuchungen an jungen Senfpflanzen in Quarzsand, dem *Plasmodiophora*-Dauersporen und Knop-Nährlösung in verschiedenen Konzentrationen zugefügt wurden, bestätigen diese Beobachtungen im Prinzip. Wurde der Quarzsand mit einer normal konzentrierten Knop-Nährlösung versetzt, so traten bei gleichen Versuchsbedingungen — insbesondere auch gleichen pH-Werten — signifikant höhere Infektionsraten auf als bei einer verdünnten Nährlösung. Das Infektionsergebnis folgte mit abnehmender Tendenz dem Konzentrationsgefälle der Lösungen. Die Versuche deuten auf einen Förderungseffekt der Knop-Nährlösung hin, wobei man geneigt ist, im wesentlichen eine Begünstigung der Testpflanzenanfälligkeit durch die besonderen Nährstoffwirkungen zu sehen. Untersuchungen, in denen nach einer bereits beschriebenen Methode (Bochow 1960) sowohl die Infektionsrate als auch die Keimung der Dauersporen von *P. brassicae* geprüft wurden, zeigten aber auch einen signifikanten Einfluß auf die Sporenkeimung des Pilzes. Die Tabelle bringt das Ergebnis eines Keimtestes, bei dem nach einer

Versuchsdauer von 7 Tagen die unter dem Einfluß verschieden konzentrierter Knop-Nährlösungen in Quarzsand gekeimten Sporen festgestellt wurden.

Tabelle

Testung der Sporenkeimung von *P. brassicae* in Quarzsand mit verschieden konzentrierter Knop-Nährlösung, 1,2 × 10^7 Pilzsporen je cm^3 Quarzsand, Temperatur 25 °C; Quarzsandfeuchtigkeit 80 % der WK. $\bar{x}$ = Durchschnittsprozentsatz leerer Sporenhüllen von 4 × 100 ausgezählten Dauersporen. $s_{\bar{x}}$ = Streuung, P = Grenzwahrscheinlichkeit in Prozent zwischen A und B und B und C

Versuchsvariante	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	P	pH (Nährlösung)
Quarzsand +				
A = Knop-Nährlösung unverdünnt	24,0	0,84		5,5 bis 5,6, justiert mit n/10 H_2SO_4 und n/10 NaOH
B = Knop-Nährlösung verdünnt auf 1/4	17,0	1,11	0,24	
C = Knop-Nährlösung verdünnt auf 1/100	11,3	0,41	1,86	

Die Resultate, die in Wiederholungsversuchen ähnlich waren, weisen eine gleiche Tendenz wie die obenerwähnten Infektionsergebnisse auf. Wir schließen daraus, daß ein gewisser Nährstoffgehalt eines Mediums nicht nur über das Wachstum der Pflanze, sondern auch über eine direkte Beeinflussung des Pilzes Bedeutung gewinnt. Welche Einzelvorgänge hierbei eine Rolle spielen, bleibt noch zu untersuchen. Beobachtungen von MACFARLANE (1952), nach denen auf einem gebrachten Boden durch Applikation mineralischer Nährstoffe offensichtlich eine stärkere Spontankeimung der Herniesporen einsetzte, bekräftigen unsere Schlußfolgerung und weisen auf deren praktischen Wert hin.

Literaturverzeichnis

BOCHOW, H., 1960: Zur Anwendung des Wurzelhaarinfektionstestes bei *Plasmodiophora brassicae* Wor. Phytopath. Z. **37**, 236—244.

MACFARLANE, I., 1952: Factors affecting the survival of *Plasmodiophora brassicae* Wor. in the soil and its assessment by a host test. Ann. appl. Biol. **39**, 239—256.

— —, 1958: A solution-culture technique for obtaining root-hair, or primary infection by *Plasmodiophora brassicae*. J. gen. Microbiol. **18**, 720—732.

Besprechungen

Buchner, P., Tiere als Mikrobenzüchter. Verständliche Wissenschaft, Band 75. Springer-Verlag Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1960, VIII + 160 Seiten, 102 Abbildungen, gebunden 8,80 DM.

Etwa ein halbes Jahrhundert alt ist unser Wissen von den Endosymbiosen der Tiere mit Bakterien und niederen Pilzen, bei denen die niederen Organismen zeitweise oder für immer durch Aufnahme in den Tierkörper ihr selbständiges Leben aufgegeben haben. Die meisterhafte Darstellung bringt eine gelungene Auslese der vielen Wechselbeziehungen zwischen Würmern, Mollusken, Fischen, Arthropoden u. a. mit Algen, Flagellaten, Pilzen und Bakterien. Temporäre wie erbliche Symbiosen lassen die unübersehbaren Möglichkeiten wechselseitiger Anpassungen erkennen. Dabei erscheint der tierische Organismus gleichsam als Züchter der Endosymbionten, deren biochemische Leistungen sich für seine Entwicklung als unentbehrlich erwiesen haben.

Durch die Endosymbiosen ist die Vermehrungsintensität der Mikroorganismen beschränkt, und der Tod des Wirtes hat auch ihren Untergang zur Folge. Daher muß die Vorstellung von einem harmonischen Zusammenleben für diese Art der Wechselbeziehungen aufgegeben werden, die besser als Helotismus (Herr-Diener-Verhältnis) zu bezeichnen ist. Besonders hervorzuheben sind die Verhältnisse bei den Polysymbiosen, in denen nacheinander mehrere Mikroorganismen nach Möglichkeit in einem Myzetom vereinigt werden. Hierbei führt der Erwerb eines zusätzlichen Symbionten zu Disharmonien, die unter Umständen den Tod eines vorhandenen Gastes zur Folge haben. Die Probleme der eubiotischen und antibiotischen Wechselbeziehungen, der Möglichkeiten und Grenzen einer Vertauschbarkeit der Symbionten, der künstlichen Schaffung neuer Symbiosen und der Resistenz der Organe des Wirtes werden, obwohl nur kurz umrissen, gerade Pathologen und Ökologen viele Anregungen bieten. Das Büchlein schließt mit der Stammesgeschichte der Endosymbiosen, die wichtige Rückschlüsse auf eine Änderung in der Ernährung und Lebensweise der Wirte erlaubt. Der Verfasser bringt hierin zum Ausdruck, daß der Reichtum dieser überraschenden Anpassungsformen nicht als eine Folge der Auslese richtungsloser Mutationen angesehen werden kann, sondern ein planvolles Wirken noch unbekannter Kräfte im Organismus erkennen läßt.

K. Mayer, Berlin-Dahlem

Fröhlich, G., Gallmücken. Die Neue Brehm-Bücherei, Nr. 253. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg-Lutherstadt, 1960. 80 Seiten mit 44 Abbildungen. Preis DM 4,50.

Die Gallmücken sind eine auch für den Phytopathologen interessante Insektengruppe. Die Veränderungen, welche sie am Sproß, an Blättern, Stengeln, Blüten, Früchten, Samen und an Wurzeln hervorrufen, geben den befallenen Pflanzen nicht nur ein besonderes Gepräge, sondern führen bei Kulturpflanzen auch zu erheblichen Schädigungen und Ertragseinbußen. Die Neue Brehm-Bücherei erfährt durch das vorliegende Heft eine Bereicherung ihrer bereits stattlichen, von Laien und Fachkreisen geschätzten Folge. Trotz der Kürze wird alles Wissenswerte über Gallen, ihre Entstehung und über die Biologie der Gallenerreger, soweit sie zu den Dipteren gehören, berichtet. Dabei wird das Hauptgewicht auf diejenigen Gallmücken gelegt, die Mißbildungen an den wirtschaftlich wichtigen Kulturpflanzen verursachen. Von den vier Unterfamilien der *Itonididae* (*Cecidomyiidae*) sind die *Itonidinae* fast ausschließlich schädliche Arten. Eingehend beschrieben werden die Vergallungen an Getreide und Kulturgräsern, bewirkt durch Weizengallmücken, Hessen- und Roggenstengelmücke, Wiesenrispenmücke u. a., ferner die Schädigungen durch Kohlschoten- und Kohldrehherzmücke an kreuzblütigen Kulturpflanzen, sowie Vergallungen bei Leguminosen (Luzerne,

Erbse) und bei Zierpflanzen (Veilchen, Chrysantheme). Außerdem werden die schädlichen Gallmücken im Obstbau (Himbeere, Birne u. a.) und an Forstpflanzen (Eiche, Pappel, Birke, Buche u. a.) besprochen. Das erste Kapitel behandelt mit reicher Bildbeigabe Gestalt und System der Gallmücken, wobei die Unterschiede der schädlichen Arten herausgestellt werden, besonders bei den Fühlergliedern, Flügeln, Kopulationsapparaten und Legeröhren der Imagines und den letzten beiden Abdominalsegmenten der Larven. In den Kapiteln über Lebensweise und Entwicklung, sowie Gallen und Gallenbildung wird u. a. die Bedeutung der Nährpflanze und die Wechselbeziehung zwischen dieser und dem Gallenerreger dargelegt. Zahlreiche Abbildungen vermitteln einen Eindruck von der Mannigfaltigkeit der Gallen, die, abgesehen von dem Bildungsherd, noch in histoide (ohne Gliederung in einzelne Organe) und organoide Formen unterschieden werden können. Blattgallen finden sich an Veilchen und Chrysanthemen, Blüten- und Sproßgallen an Luzerne, Fruchtgallen an Birne. Auch die Frage nach der Reizursache der Gallbildung wird gestellt, deren Beantwortung immer noch Schwierigkeiten bereitet. In den meisten Fällen geht der Reiz von der frisch geschlüpften Larve aus, die möglicherweise während der Nahrungsaufnahme mit dem Speichel ein Sekret ausscheidet, dessen Wirkung ähnlich demjenigen pflanzlicher Wuchsstoffe ist und Hypertrophie, Hyperplasie sowie Streckung der Zellen verursacht, aber nur im jungen meristematischen Pflanzengewebe. Über die kausalen Zusammenhänge im Einzelnen, die zur Spezialisierung der Gallenerreger auf bestimmte Wirtspflanzen und häufig sogar auf besondere Organe der betreffenden Pflanze geführt haben, besteht noch Unklarheit. Dasselbe gilt für die Bildung verschiedener Gallenformen auf dem gleichen Blatt (z. B. der Buche), wobei sich das Vorhandensein eines artspezifischen Sekrets der Larven beider Gallmückenarten nicht bestätigt hat. Ein umfangreiches, drei Seiten beanspruchendes Literaturverzeichnis beschließt die Ausführungen und gibt mit diesen ein wertvolles Rüstzeug für weiteres Studium über Gallen und ihre Probleme. GODAN, Berlin-Dahlem

Müller, E. W., Milben an Kulturpflanzen. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Lutherstadt, 1960. 71 Seiten, 39 Abbildungen. Die Neue Brehm-Bücherei Nr. 270, 3,75 DM.

Auf wenigen Seiten skizziert der Verfasser die Biologie der phytophagen Milben und diese an Kulturpflanzen verursachende Schäden. Nicht immer gut gelungene Reproduktionen charakteristischer Schadbilder erläutern den kurzgefaßten Text. Kurz gestreift werden die Gradationsursachen und Möglichkeiten einer Prognose zur Vorbereitung der Bekämpfungsaktionen. Das lesenswerte Büchlein schließt mit einem Überblick über die Vorbeugungs- und Bekämpfungsmaßnahmen, unter denen auch die biologische Regelung zur Abwehr schädlicher Milben eingehend erörtert wird. K. MAYER, Berlin-Dahlem

Handbuch der Pflanzenphysiologie. Herausgegeben von W. RUHLAND. Bd. V. Die CO_2-Assimilation. Redigiert von A. PIRSON. Teil 1; XL und 1013 Seiten, 331 Abbildungen; Teil 2: XVI und 868 Seiten, 309 Abbildungen. Springer-Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1960. 530,— DM (Subskriptionspreis 424,— DM).

Die Photosynthese ist der zentrale chemisch-physiologische Prozeß der Pflanze, der erst das Leben der meisten heterotrophen Organismen ermöglicht. Es nimmt daher nicht wunder, wenn sich sowohl die biochemische wie die physiologische Forschung in den letzten Jahrzehnten besonders dieses Gebietes angenommen hat. Die Darstellung des vorliegenden Materials einschließlich der Chemosynthese und der vielen Randgebiete — umspannt doch die CO_2-Assimilation einen Bogen von rein chemischen und physikalischen Fragen bis zur Ökologie und Anatomie — füllt fast 2000 Seiten. Dabei handelt es sich aber nicht etwa um ein abgeschlossenes Wissensgebäude, dann wäre die Bearbeitung wohl kürzer ausgefallen, sondern in vielen Punkten prallen noch die verschiedenen Auffassungen aufeinander, es sei nur auf die Energetik der Photosynthese hingewiesen, und eine große Reihe von Fragen sind noch ungeklärt.

Bei dem riesigen Umfang ist es verständlich, wenn hier nur eine kurze Übersicht des Gebotenen gegeben werden kann. Nach einer kurzen Darstellung physikalisch-chemischer Fragen werden die atmosphärische Luft (Buch), der Boden (Meyer und Koepf), das Meer- (Buch) und das Süßwasser (Ruttner) als Kohlenstoffquellen für die Pflanze und anschließend die CO_2-Aufnahme durch die Pflanze (Steemann-Nielsen) behandelt. Ein sehr zu begrüßender historischer Abschnitt (Loomis) leitet das Kapitel „Die Photosynthese der grünen Pflanzen" ein, in dem wir zunächst etwas über die Methoden der Photosynthese erfahren (Egle, Simonis, Myers) und dann eingehend mit den Plastidenpigmenten (Chlorophylle und Carotinoiden) bekanntgemacht werden (Aronoff, French, Kupke, Egle, Goodwin). Ein Abschnitt ist den besonderen Pigmenten der Algen gewidmet (Haxo und O'Heocha). Die Struktur der Plastiden, die bereits in Bd. 1 eingehend besprochen worden ist, wird hier nochmals unter dem besonderen Gesichtswinkel der speziellen Funktion behandelt (Thomas). Daran schließt sich die Besprechung der energetischen Seite der Photosynthese (Kok). Die Analyse des Photosynthesevorgangs umfaßt Abschnitte über die Blitzlichtmethode (Witt), Induktionserscheinungen (van der Veen), Fluoreszenzvorgänge (Franck), die photochemische Aktivität isolierter Chloroplasten (Clendenning) und über den Chloroplasten als funktionelle Einheit (Arnon), ferner über die Photochemie des Chlorophylls (Livingston) und den Weg des Kohlenstoffs in der Photosynthese (Bassham und Calvin). Ausführungen über die Rolle des Sauerstoffs, biochemische Variabilität (Kessler) und lichtabhängige Phosphorylierung (Simonis) beschließen dieses Kapitel und den ersten Teilband. Der zweite Teilband bringt die ökologischen Probleme und die Chemosynthese, so vor allem die Abhängigkeit von äußeren und inneren Faktoren, wie Licht (Gabrielsen, Stålfelt), Kohlendioxyd, Temperatur, Luft- und Wasserbewegungen (Stålfelt), mineralische Faktoren (Pirson), Gifte und Krankheiten (Stålfelt). Der letzte Abschnitt wäre naturgemäß für den Phytopathologen von besonderem Interesse. Man ist aber über die Dürftigkeit unserer Kenntnisse auf diesen Gebieten überrascht. (Ist wirklich nicht mehr vorhanden?) Von Giften werden nur kurz die schweflige Säure und die Wirkung von zu hohen CO_2-Konzentrationen behandelt, und auf nur einer halben Seite wird mitgeteilt, daß die Blattrollkrankheit bei Kartoffeln und Tomaten die photosynthetische Leistung auf ein Drittel herabsetzt, kräuselkranke Kartoffelblätter aber eine etwas höhere Assimilation als gesunde zeigen. Ganz allgemein schwächen aber Virosen die Photosynthesetätigkeit. Über die Ursachen weiß man praktisch noch nichts. Weitere Abschnitte befassen sich mit der Chlorophyllkonzentration, der Bedeutung der Anthocyane (Gabrielsen), der Assimilatemenge (Müller), des Wassergehaltes, des Wundreizes sowie mit Aktivierung und Inaktivierungserscheinungen und der Frage des Zusammenwirkens all dieser Faktoren (Stålfelt). Außer der ökologischen Energetik der Photosynthese (Müller) werden auch die CO_2-Konzentration in Pflanzengesellschaften (Huber), experimentell erzeugte Anpassungen (Simonis) und natürliche Ökotypen (Tranquillini) besprochen. Spezielle Darstellungen der Photosynthese von Algen (Haxo), Flechten und Moosen (Stålfelt), immergrüner Pflanzen (Pisek) und der höheren Pflanzen der Arktis und des Hochgebirges (Pisek), der Steppen und Wüsten (Stocker), des tropischen Regenwaldes und des Wassers sowie des Phytoplanktons (Gessner) und von Bakterien (Gest und Kamen) beschließen den photosynthetischen Teil. Der chemosynthetische Teil bringt nach der Besprechung allgemeinerer Fragen (Larsen) spezielle Abschnitte über Nitrifikation (Engel), Schwefelbakterien (Umbreit), Eisenbakterien, wasserstoffoxydierende Bakterien und Kohlenwasserstoffe verwertende Mikroorganismen (Schlegel).

In vielen Fragen der CO_2-Assimilation wird dieser Band für lange Zeit die zuverlässige Grundlage bilden. Für einige Fragen wird bei der stürmischen Entwicklung der Forschung gerade auf diesem Gebiet die gegebene Darstellung in Kürze überholt sein. So ist dem Abschnitt über den Weg des Kohlenstoffes bereits in der vorliegenden Abfassung ein Addendum beigefügt. Nichts demonstriert wohl deutlicher das zur Zeit noch herrschende Arbeitstempo auf diesem Zweig der Pflanzenphysiologie.

H. Drawert, Marburg (Lahn)

Pflanzenpathogene Bakterien

Eine Einführung mit Hinweisen auf einschlägige bakteriologische und serologische Arbeitsmethoden

Von Ob.-Reg.-Rat a. D. Dr. C. Stapp

1958. 260 Seiten mit 100 Abbildungen.

Kartoniert DM 29,—, Ganzleinen DM 32,—

„In erschöpfender Darstellung wurden von dem als ausgezeichneter Kenner der Pflanzenbakteriosen einen internationalen Ruf genießenden Autor alle bisher bekannt gewordenen, durch Bakterien verursachten Erkrankungen der Pflanzen behandelt und somit ein Standardwerk geschaffen, in welchem dieses schwierige Wissensgebiet eine meisterhafte Bearbeitung erfahren hat."

Sydowie, Wien

„Das vorliegende Buch schließt tatsächlich eine bisher vorhandene empfindliche Lücke im Schrifttum über Pflanzenpathologie, denn es stellt das erste Lehrbuch, in dem das Gebiet der pflanzenpathogenen Bakterien behandelt wird, dar. Dem Verfasser, der weltweiten Ruf auf diesem Forschungsgebiet genießt, wie dem Verlag, ist daher für dieses Werk besonders zu danken."

Anzeiger für Schädlingskunde

Nematoden der Kulturpflanzen Europas

Von Dr. H. Goffart

1951. 144 Seiten mit 91 Abbildungen. Ganzleinen DM 18,—

Praxis und Wissenschaft erhalten durch dieses auf Grund jahrzehntelanger Beobachtung geschaffenen Werkes eine klare Übersicht über die wichtigsten Arten der Nematoden und die durch sie hervorgerufenen Schäden an den verschiedenen Kulturpflanzen. Ein ausführliches Schrifttumsverzeichnis sowie alphabetische Zusammenstellungen der berücksichtigten Pflanzen und der aufgeführten Nematoden erhöhen die Übersichtlichkeit des Werkes.

„So sind Gründlichkeit, klarer und übersichtlicher Aufbau ein Kennzeichen dieses Buches, das den Niederschlag der 25jährigen Forschungsarbeit und praktischen Erfahrung eines unserer besten Nematodenspezialisten darstellt. Das Buch ist insbesondere für alle im Pflanzenschutz Tätigen, aber auch für den interessierten Landwirt, Pflanzenzüchter und Biologen eine willkommene Bereicherung seiner Fachliteratur."

Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Farbtafelatlas der Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen

Von E. GRAM, P. BOVIEN und C. STAPEL.

Herausgegeben vom Landwirtschaftlichen Informationsdienst, Kopenhagen

1956. 128 Seiten mit 720 mehrfarbigen Abbildungen auf 112 Tafeln.

Bilderklärungen in Deutsch, Englisch und Dänisch, Sachregister viersprachig (Latein).

Ganzleinen DM 19,50

Bisher hat es wohl noch keine so umfangreiche Zusammenstellung von mehrfarbigen Abbildungen kranker und von Schädlingen befallener landwirtschaftlicher Kulturpflanzen in Ganz- und Teildarstellung sowie der Schädlinge selbst in einer so wirklichkeitsnahen und naturgetreuen Wiedergabe gegeben. Der Band behandelt Getreide, Gräser, Klee, Luzerne und ähnliche Futterkräuter, Hülsenfrüchte, Rüben, Kohlrüben, Raps und andere Kreuzblütler, Kartoffeln, Möhren und Flachs. Jeder Bildtafel gegenübergestellt ist eine kurze Erklärung in dänischer, englischer und deutscher Sprache, das Sachregister am Ende des Buches bringt außerdem auch noch die lateinischen Bezeichnungen. Dadurch wird der Band nicht nur zu einem einzigartigen Nachschlagewerk, sondern gleichzeitig auch zu einem geeigneten deutsch-englisch-dänischen Fachwörterbuch für das Gebiet der Krankheiten und Schädlinge an landwirtschaftlichen Kulturpflanzen.

Wir liefern aus:

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem

Heft 100: **Das Trichogramma-Problem**

1960. 50 Seiten mit zahlreichen Abbildungen im Text und auf Tafeln.
Kartoniert DM 9,60

Heft 101: **Standorteinflüsse und natürliche Feinde als Begrenzungsfaktoren von Melolontha-Larvenpopulationen eines Waldgebietes (Forstamt Lorsch, Hessen)** (*Coleoptera: Scarabaeidae*)

Von Dr. O. F. NIKLAS

1960. 60 Seiten mit 9 Abbildungen. Kartoniert DM 8,30

Heft 102: **Zur Toxikologie der Insektizide**
Literaturübersicht / 2. Teil: Toxaphen-Gruppe

Von Dr. W. GRUCH und Dr. P. STEINER

1960. 64 Seiten mit zahlreichen Tabellen. Kartoniert DM 11,30

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG